



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

**DESARROLLO DE COMPUESTOS ELASTOMÉRICOS EN BASE DE
CAUCHO NATURAL/MICROPARTÍCULAS DE MADERA Y ESTUDIO DE SU
DEGRADACIÓN FÚNGICA.**

Proyecto de Título presentado a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción para optar al título profesional de Ingeniero en Biotecnología Vegetal.

POR: Allan Sebastián Bascuñán Heredia

Profesor Guía: Héctor Aguilar Bolados

Concepción, Chile 2023

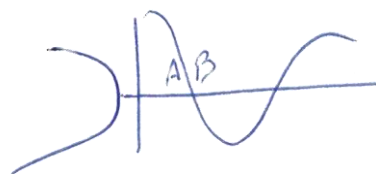
© 2023

Allan Sebastián Bascuñán Heredia

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

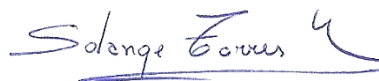
DESARROLLO DE COMPUESTOS ELASTOMÉRICOS EN BASE DE CAUCHO
NATURAL/MICROPARTÍCULAS DE MADERA Y ESTUDIO DE SU
DEGRADACIÓN FÚNGICA.

Profesor Guía



Héctor Aguilar Bolados
Profesor Asistente
Químico Industrial, Dr.

Profesora Guía



Solange Torres Galán
Investigadora
Bióloga, Dr.

Profesor Guía



Regis Teixeira Mendonça
Profesor Titular
Ingeniero Químico, Dr.

Calificación del Proyecto de Título:

Héctor Aguilar Bolados: 7,0.

Solange Torres Galán: 6,7.

Regis Teixeira Mendonça: 6,5.

DEDICATORIA

En esta sección quiero expresar mi más sincero agradecimiento y me permito dedicar este trabajo a mi familia que con todo amor, paciencia y preocupación, han confiado en mí, realizando grandes sacrificios para brindarme el tiempo, apoyo emocional y económico para que este día por fin llegara.

En específico, dedico mi trabajo a:

Juan Carlos Bascuñán, mi padre; Cristóbal y Martín Bascuñán, mis hermanos; Magdalena Luengo, mi tía; Marta Medina, mi abuela; Elizabeth Heredia, mi madre.

AGRADECIMIENTOS

En esta sección tengo el agrado de mencionar a un montón de personas, probablemente se me olviden algunas. Primero agradecer a mi familia, con mucho amor. Ustedes saben quiénes son. También agradecer a toda la gente que confió en mí y me brindó de su tiempo y dedicación; apoyo académico, emocional, moral, logístico, recreativo, entre otros.

Agradecer a mis amigos de Yumbel, que durante estos años universitarios han aparecido en diversos momentos, en específico agradecer a Felipe, Christopher (Piter), Oscar, Jordan, Billy, Jaime, Camila Neira, Christian (Kuky), Patricio (Pato), Claudia (Clou). También agradecer a la “tía” Delia (Yeya) por darme un espacio en su pensión estos años en Concepción y a Ignacio (Nacho), compañero de departamento que con sus consejos claves, me ayudaron a afrontar la vida de adulto joven.

Agradecer a mis compañeros y amigos que conocí durante la carrera: Isidoro (Doro), Daniel (pastor Chae), Mauricio, Javier, Vicente, Nicolás Espinoza, Francisco, Cindy, Damary, Nicolás Rivas, Matías Rivas, Camila, Joshe (Jo), Vanessa Sandoval, Constanza Jara, Claudia Márquez y a todo compañero o compañera que con paciencia me explicaron las materias.

También agradecer al profesor José Becerra por recibirme en el Laboratorio de Química de Productos Naturales y además a todo su equipo de trabajo, donde me permito mencionar a Solange Torres, Don Edu, Claudia Pérez, Fabián Figueroa, Don Nino, Susanita y mis compañeros de laboratorio: Fernanda, Cris, Branco, Ignacio, entre otros. También agradecer a mis compañeros de Icho Ryu y a André-sensei, por sus enseñanzas tan importantes sobre el aiki y la vida cotidiana.

Además, expresar especial agradecimiento a Héctor Aguilar, profesor guía y mentor durante estos últimos 3 semestres, enseñándome sobre la dedicación y amor a la ciencia; por brindarme motivación y conocimientos clave para mi desarrollo personal, académico y profesional. Finalmente agradecer a Muro, por acompañarme y cuidarme durante este último y rudo mes de diciembre junto al pequeño y perruno Lef.

FINANCIAMIENTO

Este Proyecto de Título fue financiado por el Proyecto FONDECYT 11200437.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--|------|
| ÍNDICE DE TABLAS | x |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | xi |
| RESUMEN..... | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1. Propiedades de los elastómeros..... | 2 |
| 1.2 Extracción e importancia económica del caucho natural | 2 |
| 1.3. Química del poliisopreno | 3 |
| 1.4. Mezclas y vulcanización del caucho natural | 3 |
| 1.5. Susceptibilidad microbiana caucho natural y problemáticas ambientales | 5 |
| 1.6. Biodegradación del caucho natural | 6 |
| 1.7. Fundamentos para la degradación de los rellenos de madera..... | 8 |
| II. METODOLOGÍA..... | 10 |
| 2.1 Materiales, reactivos y organismos utilizados..... | 10 |
| 2.2. Acondicionamiento y preparación de los elastómeros y rellenos | 11 |
| 2.2.1. Tamizaje de las micropartículas de madera (MPM)..... | 11 |
| 2.2.2. Serie 1: Caucho natural relleno con nanoarcilla CLOISITE 20 A | 11 |
| 2.2.3. Serie 2: Caucho natural relleno con partículas de madera/PEG 1500/Arcilla | 12 |
| 2.2.4. Reometría de las mezclas..... | 13 |
| 2.2.5. Vulcanización de las mezclas de caucho | 13 |
| 2.3. Propiedades físicas y mecánicas..... | 14 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.1. Resistencia a la abrasión por tambor rotativo desgastador | 14 |
| 2.3.2. Dureza Shore A mediante durómetro | 14 |
| 2.3.3. Resiliencia mediante un péndulo de rebote Goodyear-Healey | 15 |
| 2.3.4. Compresión Set..... | 15 |
| 2.3.5. Ensayo tensión-deformación..... | 15 |
| 2.3.6 Ensayo de calorimetría diferencial de barrido (DSC)..... | 15 |
| 2.3.7. Ensayo de hinchazón | 15 |
| 2.4. Ensayo en cámara húmeda | 16 |
| 2.5. Ensayos biológicos cuantitativos..... | 16 |
| 2.5.1. Evaluar degradación de discos de caucho..... | 16 |
| 2.5.2. Evaluar degradación de mezclas contrastantes | 17 |
| 2.5.3. Cultivos en medios líquidos..... | 17 |
| III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 19 |
| 3.1. Reometría de las mezclas | 19 |
| 3.2. Propiedades físicas y mecánicas..... | 22 |
| 3.2.1. Índice de resistencia a la abrasión..... | 22 |
| 3.2.2. Dureza Shore A..... | 24 |
| 3.2.3. Resiliencia (%)..... | 26 |
| 3.2.4. Compresión Set..... | 28 |
| 3.2.5. Ensayo de tensión-deformación..... | 30 |
| 3.2.6. Análisis calorimetría diferencial de barrido (DSC) | 33 |
| 3.2.7. Ensayo de hinchazón por agua..... | 34 |
| 3.3. Ensayo en cámara húmeda | 35 |
| 3.4. Ensayos biológicos cuantitativos..... | 36 |

| | |
|---|----|
| 3.4.1. Evaluar degradación de discos de caucho..... | 36 |
| 3.4.2. Evaluar degradación de mezclas contrastantes (0 phr y 80 phr)..... | 38 |
| 3.4.3. Cultivos en medios líquidos..... | 39 |
| V. BIBLIOGRAFÍA..... | 41 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Materiales, reactivos y cantidad de estos en la preparación de un sistema de vulcanización convencional (CV)..... | 11 |
| Tabla 2. Proporciones de rellenos de la Serie de nanoarcilla..... | 12 |
| Tabla 3. Mezclas y proporciones del relleno con respecto a sus partes por 100 de caucho. | 13 |
| Tabla 4. Parámetros de curva de vulcanizado de muestras (MA0-MA30) promedios y desviación estándar que fueron obtenidos. | 19 |
| Tabla 5. Parámetros de curva de vulcanizado obtenidos de muestras (MM0-MMPA80) promedios y desviación estándar que fueron obtenidos..... | 20 |
| Tabla 6. Parámetros del análisis de calorimetría diferencial de barrido para mezcla MM0..... | 33 |
| Tabla 7. Parámetros del análisis de calorimetría diferencial de barrido para mezcla MM80..... | 33 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| <p>Figura 1. Representación de la biodegradación de compuestos de caucho natural vulcanizado. (•) representa a los organismos descritos para el proceso respectivo. (►) representa las moléculas, enlaces y/o polímeros degradados en la etapa correspondiente.</p> | 7 |
| <p>Figura 2. Representación de los resultados que fueron obtenidos en el ensayo de índice de Resistencia a la Abrasión (ARI), promedio de las Mezclas-Arcilla y su desviación estándar.</p> | 22 |
| <p>Figura 3. Representación de los resultados que fueron alcanzados en el ensayo de índice de Resistencia a la Abrasión (ARI) promedio de las Mezclas-Madera y su desviación estándar.</p> | 23 |
| <p>Figura 4. Representación de la Dureza promedio (Shore A) que fue conseguida en la serie Mezclas-Arcilla y su desviación estándar.</p> | 24 |
| <p>Figura 5. Representación de la Dureza promedio (Shore A) que fue alcanzada en la serie Mezclas-Madera y su desviación estándar.</p> | 25 |
| <p>Figura 6. Representación de Resiliencia promedio (%) que fue obtenida en las Mezclas-Arcilla y su desviación estándar.</p> | 26 |
| <p>Figura 7. Resultados obtenidos de Resiliencia promedio (%) alcanzada en las Mezclas-Madera y su desviación estándar.</p> | 27 |
| <p>Figura 8. Representación del porcentaje de la deformación original promedio que se obtuvieron de las Mezclas-Arcilla y su desviación estándar.</p> | 28 |

| | |
|---|----|
| Figura 9. Representación del porcentaje de la deformación original promedio de las Mezclas-Madera y su desviación estándar. | 29 |
| Figura 10. Gráfico de tensión-deformación obtenido desde los compuestos de la serie-nanoarcilla. | 30 |
| Figura 11. Gráfico de tensión-deformación obtenido desde los compuestos de la serie-madera (MM0-MM40). | 31 |
| Figura 12. Gráfico de tensión-deformación obtenido desde los compuestos de la serie-madera (MM80-MMPA80). | 32 |
| Figura 13. Representación del aumento de masa promedio en porcentajes durante los 41 días del ensayo. | 34 |
| Figura 14. Metodología utilizada para este ensayo. A: Placas de Petri utilizadas como cámara húmeda durante 30 días. B-C-D-E: trozos de caucho natural bajo microscopio (40x). | 35 |
| Figura 15. Gráfico que representa la pérdida de masa promedio de las mezclas MM0-MM80 por efecto de los organismos fúngicos <i>P. ostreatus</i> y <i>T. versicolor</i> después de 50 días de incubación en placas de Petri. | 36 |
| Figura 16. Gráfico que representa la pérdida de masa promedio de las mezclas MM0 y MM80 por efecto de los organismos fúngicos <i>P. ostreatus</i> y <i>T. versicolor</i> después de 50 días de incubación en placas de Petri. | 38 |
| Figura 17. Gráfico que representa la pérdida de masa promedio de las mezclas MM0 y MM80 por efecto de los organismos fúngicos <i>P. ostreatus</i> y <i>T. versicolor</i> después de 45 días de degradación en medios de cultivos líquidos (YMG y ADE). | 39 |

RESUMEN

El caucho natural ha desempeñado un papel importante para la humanidad debido a sus propiedades y diversas aplicaciones. Existen compuestos de caucho natural que, mezclados con cargas sintéticas, confieren excelentes propiedades mecánicas y físicas a los materiales de caucho, que se utilizan para la fabricación de diversos artículos domésticos e industriales, como los neumáticos. Sin embargo, el uso de estas cargas sintéticas ha traído consigo una serie de problemas medioambientales debido a su toxicidad y baja susceptibilidad microbiana. El objetivo de este estudio se centró en la obtención de compuestos de caucho natural con cargas como la nanoarcilla CLOISITE 20 A y micropartículas de madera (MPM). Se realizó estudio de las propiedades físicas y mecánicas, concretamente el aumento de dureza o disminución de resiliencia debido a los rellenos. Sin embargo, el efecto del polietilenglicol sobre las MPM fue capaz de mejorar el rendimiento en resiliencia, absorción de agua y propiedades mecánicas (tensión-deformación). Además, las metodologías *in vitro* utilizadas para la biodegradación del relleno de (MPM) por hongos de pudrición blanca mostraron una pérdida de masa de hasta el 2,29%.

ABSTRACT

Natural rubber has played a significant role for humanity due to its properties and diverse applications. There are natural rubber compounds that mixed with synthetic fillers have excellent mechanical and physical properties performance of the rubber materials, which are used for the manufacture of a several household and industrial goods such as tires. However, the use of these synthetic fillers has brought with it a series of environmental problems due to their toxicity and low microbial susceptibility. The aim of this study was focused on obtaining natural rubber composites with fillers such as CLOISITE 20 A nanoclay and wood microparticles. Study of the physico-mechanical properties was conducted, specifically the increase of hardness or decrease of resilience due to the fillers. Nevertheless, the effect of polyethylene glycol on wood microparticles was able to improve the performance in resilience, water absorption and mechanical properties (stress-strain). In addition, in vitro methodologies used for the biodegradation of wood microparticles filler by white rot fungi showed a weight loss up to 2.29%.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente la humanidad tal y como la conocemos no sería lo mismo sin los polímeros. Estos materiales se usan ampliamente y se encuentran en casi todos los artículos utilizados la vida cotidiana (Feldman 2008). Hasta la fecha la importancia de los polímeros se ha destacado de forma considerable debido a sus aplicaciones en diferentes dominios de las ciencias, en la industria y en nuevas tecnologías. Particularmente, los polímeros naturales y biopolímeros han despertado interés debido a que pueden ser empleados en un amplio rango de aplicaciones tales como en la biomedicina, empaques biodegradables, construcción, entre otros (Namazi 2017).

Los primeros antecedentes que existen sobre estos compuestos datan del año 1861, cuando Thomas Graham logra distinguir entre las sustancias cristaloides, que se podían solubilizar fácilmente; y los coloides (Jacobs 2009), sustancias parecidas a pegamentos que no cristalizaban (Bernardini *et al.* 2013). Estos coloides además presentaban altas viscosidades en solución y se disolvían lentamente en solventes. Thomas explicó esta diferencia de comportamiento asumiendo que los cristaloides eran partículas pequeñas mientras que los coloides estaban formados por partículas grandes, con una gran masa molar (Cowie y Arrighi 2007). Esto fue aceptado por la mayoría de la comunidad científica de esos años, pero el desacuerdo se hizo evidente cuando se intentó hacer análisis a nivel molecular. Con el advenimiento de los postulados de Hermann Staudinger se establecen los antecedentes para la comprensión de los polímeros y macromoléculas (Hocker *et al.* 1997a, Hocker *et al.* 1997b, Ringsdorf 2004, Abd-El-Aziz *et al.* 2020, Percec y Xiao 2020, Parent *et al.* 2021).

Después de este pequeño relato nos preguntamos ¿Qué es un polímero? Un polímero se define como una gran molécula construida a partir de muchas unidades estructurales más pequeñas llamadas monómeros, unidos covalentemente en cualquier patrón concebible (Ebewele 2000). Existe un grupo de polímeros que debido a sus propiedades físicas, mecánicas y químicas se definen como elastómeros (Bukhina y Kurlyand 2007).

1.1. Propiedades de los elastómeros

Las propiedades más destacables de los elastómeros son:

1. Los elastómeros a temperatura ambiente están por encima de su temperatura de transición vítrea (T_g por sus siglas en inglés) (Wunde y Klueppel 2021).
2. Poseen la capacidad de estirarse y retraerse rápidamente (James y Guth 1996, Li *et al.* 2019).
3. Tienen un alto módulo y resistencia cuando se estiran (Kluppel 1994, Theja *et al.* 2021).
4. Contenido cristalino bajo o insignificante (Kolesnikova *et al.* 2010).
5. La masa molar es lo suficientemente grande para la formación de redes, o tienden a ser fácilmente entrecruzada (Skov y Sommer-Larsen 2008, Ivaneiko *et al.* 2017, Smejda-Krzewicka *et al.* 2017).

Uno de los ejes principales de este trabajo son los compuestos de caucho natural (natural rubber o NR por sus siglas en inglés), y éste cumple con estas cinco propiedades.

1.2 Extracción e importancia económica del caucho natural

Si bien existen más de 2.500 organismos vegetales capaces de biosintetizar látex de caucho (Cornish 2014), los más importantes son las especies vegetales: *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll.Arg. y *Parthenium argentatum* A. Gray (Bauer y Glaeser 1977, Nair y Nair 2010) por su eficiencia. Esta eficiencia se basa, como en todos los organismos vegetales, en la optimización de medidas culturales, control de patógenos, mejoramiento genético, entre otros (Schultes 1993, Vaz *et al.* 2018, Sobha *et al.* 2019, Stonebloom y Scheller 2019, Amaral *et al.* 2022). En términos económicos, según (Premadasa 2022) la producción mundial de NR registró un crecimiento interanual del 13,6%, alcanzando las 941.000 toneladas respecto al mismo período del año anterior. Mientras que la demanda mundial de NR estimaba un crecimiento interanual del 0,3% hasta los 1.210 millones de toneladas.

El NR es obtenido desde el espécimen vegetal en forma de látex, que corresponde a una suspensión coloidal acuosa, y se denomina látex de caucho natural (NRL en inglés) (Vaysse *et al.* 2009). Su extracción se realiza principalmente desde los árboles de *H.*

brasiliensis por el método de sangrado (Singh y Singh 2010). Para extraer caucho desde *H. brasiliensis* se hacen cortes oblicuos, en un ángulo ca. 30° de izquierda a derecha, con una profundidad capaz de llegar a la corteza y el floema, donde se encuentran los vasos lactíferos que concentran el NRL (Mignon y Werbrouck 2018).

1.3. Química del poliisopreno

Con respecto a la composición química del NRL encontramos proteínas, lípidos, minerales y el componente de interés para este trabajo, el 1,4-poliisopreno. Debido a que las cadenas de este polímero son insaturadas, se puede encontrar en dos formas (cis y trans) (Siler *et al.* 1997, Phattarateera y Pattamaprom 2019, Bottier 2020, Liengprayoon *et al.* 2021). El NR en la forma cis; tiene baja cristalinidad, temperatura de transición vítrea o T_g (glass temperature por sus siglas en inglés) igual a 200 K y también su temperatura de fusión o T_m (melting temperature) corresponde a 301 K. Por otra parte, la forma trans, también llamada gutapercha o balata, tiene una cristalinidad media con T_g igual a 200 K y T_m de 347 K (Abdullah *et al.* 1995, Cowie y Arrighi 2007, Tertyshnaya *et al.* 2021).

1.4. Mezclas y vulcanización del caucho natural

Con el propósito de mejorar aún más las propiedades físicas y mecánicas del NR, este se somete a un proceso conocido como vulcanización, la que, en términos simples, se entiende como el entrecruzamiento de las cadenas de poliisopreno facilitado por la acción de puentes de azufre, dando lugar a la formación de enlaces que pueden ser mono, di y polisulfuro (Tangboriboonrat y Lerthittrakul 2002, Pattanasiriwisawa *et al.* 2008, Pilipovic *et al.* 2010). Para que la vulcanización sea más eficiente, se utiliza el uso de activadores y acelerantes.

Los activadores tienen la particularidad de mejorar la cinética del proceso de entrecruzamiento y promover la formación de enlaces sulfuro (Qin *et al.* 2020).

Es por esto por lo que una gran variedad de activadores se ha empleado en diversos sistemas de vulcanización. Sin embargo, los activadores más utilizados son el óxido de

zinc (ZnO), ácido esteárico, entre otros (Gonzalez *et al.* 2000, Eshwaran *et al.* 2015). Los activadores desempeñan un papel relevante en las etapas iniciales de la vulcanización para lograr mayores densidades de enlaces cruzados. Esto se puede evidenciar en el efecto del óxido de zinc al reaccionar con los acelerantes (ej: CBS) formando quelatos de zinc activos, estos luego interactúan con el azufre: los complejos de polisulfuro de zinc son el resultado de esta reacción. Estos luego se unen a las cadenas de precursores de poliisopreno para generar estructuras reticuladas (Guzman *et al.* 2012, Movahed *et al.* 2015, Qin *et al.* 2020).

En la vulcanización del NR se han estudiado y reportado cuatro sistemas de vulcanización los cuales son: i. Convencional (CV), ii. Semi-eficiente (SEV), iii. Eficiente (EV), iv. Donador de azufre (SD) y se diferencian por la proporción de acelerantes y activadores con respecto a la cantidad de partes por cien de caucho (phr, por su sigla en inglés, parts per hundred of rubber) consideradas en la preparación (Tangboriboon *et al.* 2016, Ibrahim *et al.* 2018).

Por consecuencia, los compuestos de NR vulcanizados son aún más resistentes a la degradación bacteriana y fúngica con respecto al látex y látex de caucho centrifugado. Los rellenos se clasifican en tres categorías: (i) de refuerzo, (ii) semi-reforzantes y (iii) no reforzantes. Las cargas de refuerzo se utilizan para mejorar las propiedades (mecánicas, térmicas, eléctricas y químicas) de los materiales compuestos. Sin embargo, las cargas no reforzantes se utilizan para reducir los costes, pero también pueden disminuir las propiedades mecánicas (Kazemi *et al.* 2022). Siendo los rellenos de refuerzo los más perjudiciales para el medioambiente por su dificultad para ser degradados y la toxicidad que pueden generar de forma directa o indirecta (Dong *et al.* 2017, Zhen *et al.* 2017, Moghimian y Nazarpour 2020). Por ejemplo, el relleno sintético por excelencia en la industria del neumático es el negro de humo (CB, *carbon black* por sus siglas en inglés) gracias a su gran desempeño de propiedades físicas y mecánicas al ser usado como relleno en matrices junto al NR (Sangwichien *et al.* 2008, Yantaboot y Amornsakchai 2017, Kim *et al.* 2020). Pero por consecuencia es una gran problemática ambiental por la toxicidad que genera en los ambientes acuáticos (Rodd *et al.* 2018). Es por esto por lo que una de

las alternativas es el reemplazo de rellenos como el CB con rellenos no reforzantes basados en residuos orgánicos para aplicaciones que necesiten un desempeño de propiedades mecánicas y físicas menores a los compuestos de origen sintético. Consecuentemente, en este trabajo se utilizarán micropartículas (150-300 μm) de madera de *Pinus radiata*, producto el cual resulta del tamizaje del aserrín, un importante subproducto de la industria forestal. Por lo tanto, se estudiará el efecto de este relleno no reforzante sobre las propiedades físicas y mecánicas tales como abrasión, dureza, resiliencia, tensión-deformación entre otras. Es importante mencionar que además se estudiará el efecto del polietilenglicol (PEG con un peso molecular de 1500 g/mol), el cual es un polímero soluble en agua que se utiliza para mejorar la dispersión de las partículas de madera (Kumar y Sinha-Ray 2018, Sirisinha *et al.* 2018). También, con el fin de potenciar el desempeño de estos compuestos de caucho se estudiará el efecto arcilla montmorillonita orgánicamente modificada (nanoarcilla CLOISITE 20 A) como relleno.

1.5. Susceptibilidad microbiana caucho natural y problemáticas ambientales

Si bien el NRL se extrae desde los árboles y es de naturaleza orgánica, este es sometido a una serie de procesos que lo transforman en un compuesto más resistente a la degradación abiótica y biótica. Los principales procesos vienen estandarizados por la Sociedad Americana de Pruebas y Materiales (ASTM) y corresponden al cremado, estabilizado con amoníaco y centrifugado del látex de caucho (Aziana *et al.* 2015, Singh 2018, Hayeemasae *et al.* 2022). El amoníaco le confiere al NR la propiedad de un material antimicrobiano, además, la centrifugación lo convierte en un material con un bajo contenido de agua, lo que permite conservar el NR en bloques, láminas, crepés, entre otros (Leblanc *et al.* 2011, Liao *et al.* 2014). Debido a estos procedimientos los compuestos de NR tienen baja susceptibilidad microbiana y una vida útil mejorada en comparación al látex de caucho. Lo que se ha traducido en problemáticas ambientales considerables tales como la deforestación de bosques tropicales, contaminación ambiental, incendios y grandes emisiones de carbono (Goldfein *et al.* 2016, Goswami *et al.* 2017, Fazli y Rodrigue 2020, Cho *et al.* 2022). En la actualidad, la gran demanda de NR va a desafiar la expansión sostenible en

el Sudeste Asiático, donde se cosecha el 90% del NR. La segunda mayor causa de la deforestación tropical en la región del Sudeste Asiático es impulsada por la expansión del NR, después del cultivo de la palma aceitera (Menz *et al.* 1999, Schmid *et al.* 2021).

1.6. Biodegradación del caucho natural

En términos de degradación biológica, se ha examinado y revisado de forma amplia la susceptibilidad microbiana del NR en sus diferentes formas. (Williams 1984, Vaneijs y Aben 1991, Nanthini y Sudesh 2017). Basados en la literatura, encontramos que los pesos moleculares de las matrices del cis-1,4-poliisopreno están en el rango de 10^5 a 10^6 Da (Tsuchii *et al.* 1985, Vaneijs y Aben 1991). Consecuentemente, los compuestos de caucho son prácticamente insolubles en cualquier tipo de solvente orgánico (Li *et al.* 2011). Por lo tanto, si se aborda la degradación biológica de estos compuestos, esta tiende a ser extremadamente lenta, dado que los microorganismos prefieren utilizar como fuente de carbono y energía los fragmentos de bajo peso molecular producidos por una degradación posterior. Además, los microorganismos bacterianos y fúngicos se alimentan por medio de la síntesis de enzimas y la posterior absorción de moléculas pequeñas por osmosis, siendo esta una nutrición heterótrofa y absorbente (McLaughlin *et al.* 2009).

1.6.1. Fundamentos teóricos de la biodegradación de compuestos de caucho

Hasta donde sabemos, y con el respaldo de la información disponible en la literatura, la biodegradación de los compuestos de caucho es un proceso lento, ya que requiere, al menos, tres etapas principales, que deben llevar a cabo microorganismos especializados y específicos (Figura 1).

Biodegradación de Compuestos de NR

| DETOXIFICACIÓN | | DESVULCANIZACIÓN | | DEGRADACIÓN METABÓLICA |
|--|--|--|--|---|
| <u>Hongos de Pudrición Blanca (WRF)</u> | <u>Bacterias</u> | <u>Bacterias Oxidantes de Azufre</u> | <u>Arqueas Reductoras de Azufre</u> | |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>Pleorotus spp.</i> • <i>Recinium bicolor</i> • <i>Trametes spp.</i> | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Rhodococcus rhadochrous</i> • <i>Pseudomonas spp.</i> | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Thiobacillus thioeparus</i> • <i>Thiobacillus thiooxidans</i> • <i>Thiobacillus ferroxidans</i> | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Pyrococcus furiosus</i> | <ul style="list-style-type: none"> Biodeterioro Biofragmentación Asimilación Mineralización |
| <ul style="list-style-type: none"> ► Aditivos aromáticos | <ul style="list-style-type: none"> ► Acelerantes de vulcanización | <ul style="list-style-type: none"> ► Enlaces de azufre | | <ul style="list-style-type: none"> ► cis-1,4-poliisopreno |

Figura 1. Representación de la biodegradación de compuestos de caucho natural vulcanizado. (•) representa a los organismos descritos para el proceso respectivo. (►) representa las moléculas, enlaces y/o polímeros degradados en la etapa correspondiente.

La primera etapa corresponde a la desintoxicación de los compuestos aromáticos añadidos al NR. En esta etapa, los agentes que facilitan la vulcanización (como los acelerantes y activadores) son bioacumulados, eliminados y/o metabolizados principalmente por hongos de pudrición blanca o bacterias que han sido reportadas (Bredberg *et al.* 2002). Esta etapa está dirigida a eliminar los compuestos potencialmente tóxicos para dar paso a la acción de microorganismos desvulcanizadores y degradadores del caucho (Romine y Romine 1998, Chou *et al.* 2010, Sowani *et al.* 2019). La desvulcanización corresponde a la etapa en la que los enlaces sulfuros, disulfuros o polisulfuros son degradados por la acción de las bacterias oxidantes de azufre o de arqueas reductoras de azufre. La tercera etapa corresponde al complejo proceso de degradación metabólica del poliisopreno, que implica cuatro etapas, a saber, biodeterioro, biofragmentación, asimilación y mineralización (Tsuchii y Tokiwa 2001, Bredberg *et al.* 2002, Tsuchii y Tokiwa 2006).

1.7. Fundamentos para la degradación de los rellenos de madera

Es sabido que los hongos degradadores o pudridores de madera tienen un rol ecológico clave dentro de los ecosistemas terrestres, siendo estos los únicos capaces de degradar la madera hasta sus componentes iniciales (Hennon 1995, Li *et al.* 2022). Los hongos degradadores de madera pueden ser clasificados en 2 tipos: hongos de pudrición blanca o *white rot fungi* (WRF) y hongos de pudrición parda o *brown rot fungi* (BRF) (Highley 1990, Kim *et al.* 2016). Esto ocurre debido a la biodiversidad de especies fúngicas y sus mecanismos metabólicos especializados en la degradación de compuestos lignocelulósicos por la acción de enzimas de tipo celulasas para los compuestos de celulosa y las enzimas oxidativas (oxidorreductasas) implicadas en la degradación de la lignina. Entre estas últimas se encuentran las lacasas, peroxidasas lignolíticas de alto potencial redox (lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y peroxidasa versátil) y las oxidasas (Hammel y Moen 1991, Martínez *et al.* 2005, Barrasa *et al.* 2009, Presley *et al.* 2018, Cui *et al.* 2022, Qiu y Liu 2022). En este estudio nos enfocamos en los hongos de la pudrición blanca por su capacidad de degradar lignina y otros componentes aromáticos similares a los activadores y acelerantes en los sistemas de vulcanización del caucho natural.

Debido a los antecedentes antes mencionados en esta introducción, se presentan a continuación la pregunta de investigación, hipótesis, objetivo general y objetivos específicos.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto de rellenos tales como nanoarcilla CLOISITE 20 A y (MPM) de *Pinus radiata* sobre las propiedades físicas y mecánicas del caucho natural y cómo estos compuestos son biodegradados por hongos de pudrición blanca?

HIPÓTESIS

El contenido de relleno, micropartículas de madera de *Pinus radiata* y/o nanoarcilla, influenciarán en las propiedades físicas y mecánicas de los compuestos en base de caucho natural, que por su contenido de madera pueden ser biodegradados en algún nivel mediante la acción de hongos de pudrición blanca.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la obtención de compuestos elastoméricos en base de caucho natural/micropartículas de madera y su biodegradación por hongos de pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener compuestos en base de caucho natural con rellenos tales como la nanoarcilla y micropartículas de madera y caracterizar sus propiedades mecánicas y físicas.
2. Determinar el efecto de las cargas de nanoarcilla y micropartículas de madera en la cinética de entrecruzamiento del caucho natural.
3. Evaluar la biodegradación de los compuestos elastoméricos mediante el uso de hongos de pudrición blanca tales como los géneros: *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*.

II. METODOLOGÍA

2.1 Materiales, reactivos y organismos utilizados

- Caucho natural CMS 70° y caucho natural SGR-10.
- Azufre, COMERCIAL ESPO SPA (Santiago, Chile).
- Ácido esteárico o ácido octadecanoico, COMERCIAL ESPO SPA (Santiago, Chile).
- CBS o n-ciclohexil-2-benzotiazol-sulfenamida, COMERCIAL ESPO SPA (Santiago, Chile).
- Óxido de zinc, COMERCIAL ESPO SPA (Santiago, Chile).
- PEG 1500 o poli(etilenglicol) MERCK Co (Rahway NJ, Estados Unidos).
- Nanoarcilla CLOISITE 20 A.
- Micropartículas de madera de *Pinus radiata* entre 150-300 µm desde Temucucui, (Región de la Araucanía, Chile).
- Placas de Petri estériles.
- Bisturí y pinzas estériles.
- Medio de cultivo YMGA estéril.
- Agua destilada estéril (ADE).
- Molde rectangular de 11,5x13x0,2 cm.
- Moldes cilíndricos de 2,8x2,8x1,2 cm y de 1,6x1,6x0,8 cm
- Sacabocado de 1,6x,1,6x0,2 cm.
- Cultivo fúngico, placa de Petri inoculada con *Trametes versicolor*.
- Cultivo fúngico, placa de Petri inoculada con *Pleurotus ostreatus* var. columbinus.
- Serie de tamices estándar de EE. UU., 150 µm y 300 µm normados por la A.S.T.M. E-11.
- Parafilm (Soviquim).
- Viales de vidrio (20 ml).

2.2. Acondicionamiento y preparación de los elastómeros y rellenos

Con el fin de estudiar y obtener compuestos con potencial biodegradable, en este trabajo se realizaron diferentes actividades para lograr optimizar metodologías que permitieron la replicación a escala de laboratorio. El objetivo principal de esta etapa fue el desarrollo y estudio de las propiedades físicas y mecánicas por el aumento gradual de los rellenos

2.2.1. Tamizaje de las micropartículas de madera (MPM)

Con el objetivo de reducir el tamaño de partículas del aserrín de *Pinus radiata*, se utilizó un molinillo eléctrico de acero inoxidable para granos. Luego de esto el aserrín molido se filtró en una serie de tamices estándar de 150 μm y 300 μm normados por la A.S.T.M. E-11 hasta obtener la cantidad de gramos deseada. Antes de almacenar las MPM se secaron en una estufa Memmert (Alemania) modelo UF55 a 105 °C por dos horas.

2.2.2. Serie 1: Caucho natural relleno con nanoarcilla CLOISITE 20 A

Se prepararon 4 mezclas (1-4) de 200 gramos de caucho natural CMS 70° cada una, con una proporción de relleno de phr 0, phr 10, phr 20 y phr 30 de forma respectiva. Cada mezcla utilizó los reactivos y proporciones de la Tabla 1 lo que corresponde a un sistema de vulcanización convencional (CV). En la Tabla 1 tenemos la formulación utilizada.

Tabla 1. Materiales, reactivos y cantidad de estos en la preparación de un sistema de vulcanización convencional (CV).

| Materiales y reactivos | Partes por 100 gramos de caucho (phr) |
|-----------------------------------|--|
| Caucho natural (CMS 70° o SGR-10) | 100 |
| Ácido esteárico | 2 |
| Azufre | 2,1 |
| CBS | 0,42 |
| Óxido de zinc | 5 |

Finalmente, la Tabla 2 nos presenta las mezclas que se formularon de la siguiente forma:

Tabla 2. Proporciones de rellenos de la Serie de nanoarcilla.

| Sistema de vulcanización | Mezcla | Cantidad de nanoarcilla CLOISITE 20 A |
|---------------------------------|-----------------|--|
| Sistema | Mezcla 1 (MA0) | 0 phr. |
| Convencional (CV) (Tabla 1) | Mezcla 2 (MA10) | 10 phr. |
| | Mezcla 3 (MA20) | 20 phr. |
| | Mezcla 4 (MA30) | 30 phr. |

El procedimiento para la mezcla de estos compuestos se realizó en un mezclador abierto de la marca Zhongli Instrument Technology Co. Ltd (Guangdong, China). En primer lugar, se acondicionó el caucho natural CMS 70° en el rodillo, luego se añadieron los activadores: óxido de zinc y ácido esteárico, respectivamente. Seguido de esto se añadió el relleno de nanoarcilla CLOISITE 20 A (en las mezclas 2, 3 y 4). Luego se añadió el azufre y el acelerante (CBS) y se mezcló hasta que estuvieran homogéneas. Finalmente, cada una de las mezclas (1-4) se guardaron herméticamente en bolsas de polipropileno y fueron almacenadas a 0°C.

2.2.3. Serie 2: Caucho natural relleno con partículas de madera/PEG 1500/Arcilla

Se prepararon 7 mezclas (5-11) de 200 gramos de caucho natural SGR-10 cada una, con una proporción de relleno de MPM de 0 phr, 10 phr, 20 phr, 40 phr, 80 phr, 80 phr + 11,2 g y 10 phr de nanoarcilla, respectivamente.

Cada mezcla utilizó los reactivos y proporciones de la Tabla 1 lo que corresponde a un sistema de vulcanización convencional (CV).

La Tabla 3 indica las proporciones en partes por cien de caucho de las mezclas realizadas de la serie de nanopartículas de madera (MPM).

Tabla 3. Mezclas y proporciones de la Serie de nanopartículas de madera.

| Sistema de vulcanización | Mezcla | Cantidad de micropartículas de madera/PEG 1500/arcilla |
|---------------------------------|--------------------|--|
| | Mezcla 5 (MM0) | - |
| Sistema | Mezcla 6 (MM10) | 10 phr micropartículas |
| Convencional (CV) | Mezcla 7 (MM20) | 20 phr micropartículas |
| (Tabla 1) | Mezcla 8 (MM40) | 40 phr micropartículas |
| | Mezcla 9 (MM80) | 80 phr micropartículas |
| | Mezcla 10 (MMP80) | 80 phr micropartículas, 11,2 g PEG 1500 |
| | Mezcla 11 (MMPA80) | 80 phr micropartículas, 11,2 g PEG 1500, 10 phr de nanoarcilla |

El procedimiento de mezclado de las muestras 5-11 fue similar al de las mezclas anteriores (1-4). Finalmente, se guardó cada mezcla herméticamente en bolsas de polipropileno y fueron almacenadas a 0°C.

2.2.4. Reometría de las mezclas

Para llevar a cabo el estudio de las curvas de vulcanización, se utilizó un reómetro de troquel móvil Zhongli Instrument Technology Co. Ltd (China). Por cada mezcla se realizaron tres curvas.

2.2.5. Vulcanización de las mezclas de caucho

El entrecruzamiento se llevó a cabo en una prensa hidráulica de laboratorio de platos calefaccionados marca Zhongli Instrument Technology Co. Ltd (China). a 160 °C y una presión de 120 kg/m³.

Por cada una de las 11 mezclas (serie arcilla y madera) se vulcanizaron en 3 moldes con las siguientes características:

1. Molde rectangular de 11,5x13x0,2 cm.
2. Molde cilíndrico de 2,8x2,8x1,2 cm.
3. Molde cilíndrico de 1,6x1,6x0,8 cm.

Los tiempos de vulcanización de cada mezcla fueron los siguientes:

Las mezclas 1-4 fueron vulcanizadas por 15 minutos, las mezclas 5-8 fueron vulcanizadas por 10 minutos y las mezclas 9-11 fueron vulcanizadas por 12 minutos.

Los vulcanizados de cada muestra fueron almacenados a temperatura ambiente, en oscuridad y de forma hermética en bolsas plásticas.

2.3. Propiedades físicas y mecánicas

2.3.1. Resistencia a la abrasión por tambor rotativo desgastador

Para esta prueba se prepararon por cuádruplicado vulcanizados de cada una de las mezclas 1-11 en los moldes cilíndricos de 1,6x1,6x0,8 cm. Luego de obtenidas las mezclas vulcanizadas se registró la masa y volumen de cada una. Se preparó el tambor rotativo desgastador para tener una rotación equivalente a 40 metros y se dispusieron uno a la vez, cada uno de los moldes vulcanizados de cada una de las 11 mezclas en el equipo. Se registró la masa de cada uno de los moldes nuevamente y se calculó la pérdida de masa.

2.3.2. Dureza Shore A mediante durómetro

Para esta prueba se preparó un vulcanizado de cada una de las mezclas (1-11) utilizando un molde rectangular de 11,5x13x0,2 cm. Para medir la dureza de cada mezcla, se puso bajo el durómetro, una a la vez, cada molde de cada mezcla, registrando su dureza por cuádruplicado.

2.3.3. Resiliencia mediante un péndulo de rebote Goodyear-Healey

Para esta prueba se preparó cuatro vulcanizados de cada una de las mezclas (1-11) que fueron vulcanizados en el molde cilíndrico de 2,8x2,8x1,2 cm. Se dispuso uno a la vez, cada vulcanizado de cada una de las 11 mezclas en el péndulo de rebote Goodyear-Healey y se registró la resiliencia o rebote en porcentaje.

2.3.4. Compresión Set

Para esta prueba se utilizaron cuatro vulcanizados de cada una de las mezclas (1-11) desde el molde cilíndrico de 2,8x2,8x1,2 cm. Se midió con un pie de metro digital el espesor de cada uno de los moldes por triplicado, luego se pondrán los moldes entre un sistema de placas de acero, siendo comprimidos de forma homogénea cada uno. Luego se dispuso el sistema de placas de acero en una cámara ambiental a 70°C y una humedad de 80% por 72 horas. Finalmente se calculó nuevamente los espesores de cada uno de los moldes con un pie de metro digital y se calculó el porcentaje de la deformación original.

2.3.5. Ensayo tensión-deformación

Las propiedades mecánicas fueron determinadas utilizando un equipo Shimadzu EZ-X L 200 V usando una celda de carga de 0,5 kN según la norma A.S.T.M. D412 (2016).

2.3.6 Ensayo de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las propiedades térmicas fueron determinadas por el uso de un calorímetro diferencial de barrido DSC 214 Netzsch® y un equipo de análisis termogravimétrico Netzsch modelo TG 209F1 Iris. Las muestras corresponden a trozos que se obtuvieron desde los discos de las mezclas MM0 y MM80 antes y después de la degradación biológica del ensayo 2.5.1, las especies consideradas fueron *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*.

2.3.7. Ensayo de hinchazón

En un contenedor rectangular se dispusieron cuatro vulcanizados de cada una de las mezclas (1-11), con masa conocida. Estas muestras provienen de los moldes cilíndricos

de 2,8x2,8x1,2 cm. El contenedor se rellenó con un litro de agua destilada y luego fue sellado. Se registró la masa de los 44 vulcanizados de forma constante, cada 2-4 días aproximadamente durante 41 días.

2.4. Ensayo en cámara húmeda

Durante este ensayo, dentro de una cámara de cultivo previamente sanitizada, se cortó un trozo de caucho a la mitad y se tomó cuidadosamente del centro con una pinza estéril, 4 trozos de caucho natural CMS 70° de un mm³ de volumen. Luego se tomaron cuatro placas Petri de poliestireno y se introdujo cuidadosamente a cada una un trozo circular de papel filtro estéril, que fue empapado con agua destilada estéril. Finalmente se dispuso en cada una de las placas de Petri un trozo de caucho. Se revisó durante 30 días, rehidratando el papel filtro cada cuatro días aproximadamente. Las placas estuvieron a temperatura ambiente.

2.5. Ensayos biológicos cuantitativos

2.5.1. Evaluar degradación de discos de caucho

Se cortó con un sacabocado la cantidad de 12 discos de cada una de las mezclas de la serie madera (MM0-MM80) de 1,6x1,6x0,2 cm provenientes de los moldes cuadrados de 11,5x13x0,2 cm. Luego se pusieron los discos en una estufa Memmert (Alemania) modelo UF55 a 105 °C por dos horas, luego se registró la masa seca de los 60 discos. Estos discos fueron esterilizados en una autoclave de 50L y se utilizaron 12 placas de Petri de 8,75cm de diámetro con medio de cultivo YMGA formulación estándar (extracto de levadura 4%, extracto de Malta 1%, glucosa 0,4%, Agar 2%) de forma que cada placa de Petri tenía un disco de cada una de las cinco mezclas. Los hongos de pudrición blanca utilizados fueron: *Trametes versicolor* y *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus*, Las placas de Petri inoculada con los hongos fueron incubadas a 24 °C por 50 días para finalmente registrar la masa final de cada disco de caucho. Pasado ese tiempo cada disco fue secado a 105 °C (estufa

Memmert) por dos horas. El ensayo de degradación fue realizado en triplicado para el registro de la masa seca de cada disco de caucho.

2.5.2. Evaluar degradación de mezclas contrastantes

Se cortó con un sacabocado la cantidad de 18 discos la mezcla MM0 lo mismo para la mezcla MM80, el tamaño de los discos es de 1,6x1,6x0,2 cm. Estos discos fueron cortados desde los moldes cuadrados de 11,5x13x0,2 cm. Adicionalmente se pusieron los discos en una estufa Memmert (Alemania) modelo UF55 a 105 °C por dos horas, luego se registró la masa seca de los 36 discos. Estos discos fueron esterilizados en una autoclave de 50L y se repartieron en 12 placas de Petri de 8,75cm de diámetro con medio de cultivo YMGA (formulación estándar), de forma que seis placas tuvieran tres discos de 0 phr y las otras seis tuvieran tres discos de 80 phr. Finalmente se inoculó una sola especie fúngica por placa, repartiendo de forma igualitaria cada especie. Las especies en cuestión fueron: *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus*. Las placas de Petri se mantuvieron en incubación a 24 °C por 50 días para luego registrar la masa final de cada disco de caucho. Pasado ese tiempo cada disco fue secado en la estufa Memmert a 105 °C por 24 horas para asegurar el secado. El ensayo de degradación fue realizado en triplicado para el registro de la masa seca de cada disco de caucho.

2.5.3. Cultivos en medios líquidos

Este ensayo se realizó en viales de 20 mL donde se hicieron combinaciones con los siguientes criterios:

Organismos: *P. ostreatus* y *T. versicolor*.

Medios: Medio de cultivo YMGA 25% (formulación diluida 1:4) y agua destilada estéril (ADE).

Sustratos: Mezcla MM0 (0 phr de madera) y mezcla MM80 (80 phr de madera) previamente deshidratadas en la secadora a 105 °C por 2 horas. El sustrato adicionado a los viales corresponde a 1.000 ± 5 mg o un gramo con una desviación estándar de 0,005 g.

Los viales resultantes de esos criterios son los siguientes:

Dos (2) viales control con medio de cultivo YMGA 25%: sustrato 0 phr y sustrato 80 phr.

Dos (2) viales control con medio de cultivo YMGA 25% inoculados con: *P. ostreatus* y *T. versicolor*.

Dos (2) viales control con medio ADE inoculados con: *P. ostreatus* y *T. versicolor*.

Tres (3) viales con medio YMGA 25%, sustrato 0 phr e inoculados con *P. ostreatus*.

Tres (3) viales con medio YMGA 25%, sustrato 80 phr e inoculados con *P. ostreatus*.

Tres (3) viales con medio YMGA 25%, sustrato 0 phr e inoculados con *T. versicolor*.

Tres (3) viales con medio YMGA 25%, sustrato 80 phr e inoculados con *T. versicolor*.

Tres (3) viales con medio ADE, sustrato 0 phr e inoculados con *P. ostreatus*.

Tres (3) viales con medio ADE, sustrato 80 phr e inoculados con *P. ostreatus*.

Tres (3) viales con medio ADE, sustrato 0 phr e inoculados con *T. versicolor*.

Tres (3) viales con medio ADE, sustrato 80 phr e inoculados con *T. versicolor*.

Luego se pusieron los viales en un agitador magnético a 120 rpm por 45 días a temperatura ambiente. Después de eso se limpió con agua destilada el contenido de los 30 viales, dejando solo el sustrato. Posteriormente los viales fueron depositados en una secadora a 105 °C por 24 horas. Finalmente se registró la masa seca del sustrato de cada vial.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio corresponden a dos grandes etapas las cuales son el desarrollo, caracterización y desempeño de los compuestos elastoméricos y por otra parte el estudio de su degradación fúngica. Esto con el fin de tener conocimiento sobre el comportamiento de un subproducto de la industria forestal, a saber, aserrín de madera de *Pinus radiata* para ser utilizado como relleno en la matriz del caucho natural y además estudiar su degradación *in vitro* mediante hongos de pudrición blanca.

3.1. Reometría de las mezclas

La Tabla 4 presenta los parámetros determinados a partir de la curva de vulcanización determinado empleando el reómetro de troquel móvil Zhongli Instrument Technology Co. Ltd (China).

Tabla 4. Parámetros de curva de vulcanizado de muestras (MA0-MA30) promedios y desviación estándar que fueron obtenidos.

| Muestra | Tiempo scorch ts_2 (min) | Tiempo de vulcanizado t_{90} (min) | Torque mínimo (Nm mín.) | Torque máximo (Nm máx.) |
|---------|-------------------------------|--|----------------------------|----------------------------|
| MA0 | $3:10 \pm 0:04$ | $5:55 \pm 0:20$ | $0,060 \pm 0,001$ | $0,522 \pm 0,028$ |
| MA10 | $0:58 \pm 0:03$ | $2:40 \pm 0:08$ | $0,078 \pm 0,017$ | $0,608 \pm 0,002$ |
| MA20 | $0:50 \pm 0:02$ | $1:14 \pm 0:06$ | $0,116 \pm 0:008$ | $0,505 \pm 0,029$ |
| MA30 | $0:59 \pm 0:06$ | $1:29 \pm 0:02$ | $0,110 \pm 0,007$ | $0,395 \pm 0,028$ |

Se observa que a medida que aumenta el contenido de relleno de nanoarcilla, aumenta el torque máximo (Nm máx.) en la mezcla MA10, lo que indica un efecto reforzante a causa del relleno. Sin embargo, al aumentar el contenido de nanoarcilla el torque máximo se ve disminuido en las mezclas MA20 y MA30. Además se observa que existe una reducción en los tiempos de vulcanización (t_{90}) y tiempo de scorch (ts_2), lo que es similar en el trabajo

de (Teh *et al.* 2006) quienes realizaron compuestos de NR SGR L mezclado con arcilla montmorillonita modificada con cloruro de octadeciltrimetilamonio. Ellos también reportan una reducción gradual de estos parámetros y explican que las nanoarcillas orgánicas modificadas, al contener grupos funcionales como las aminas, pueden reducir significativamente los tiempos de vulcanización y scorch. La Tabla 5 presenta los parámetros determinados a partir de la curva de vulcanización determinado empleando el reómetro de troquel móvil.

Tabla 5. Parámetros de curva de vulcanizado obtenidos de muestras (MM0-MMPA80) promedios y desviación estándar que fueron obtenidos.

| Muestra | Tiempo scorch (min) | Tiempo t_{s_2} vulcanizado t_{90} (min) | de Torque mínimo (Nm) | Torque máximo (Nm) |
|---------|---------------------|---|-----------------------|--------------------|
| MM0 | 3:05 ± 0:09 | 5:15 ± 0:24 | 0,046 ± 0,028 | 0,391 ± 0,063 |
| MM10 | 2:52 ± 0:03 | 5:50 ± 0:18 | 0,053 ± 0,003 | 0,564 ± 0,018 |
| MM20 | 2:42 ± 0:13 | 6:13 ± 0:41 | 0,070 ± 0,018 | 0,756 ± 0,077 |
| MM40 | 2:35 ± 0:02 | 6:41 ± 0:06 | 0,068 ± 0,000 | 1,029 ± 0,009 |
| MM80 | 2:33 ± 0:04 | 7:37 ± 0:04 | 0,142 ± 0,024 | 1,743 ± 0,202 |
| MMP80 | 1:39 ± 0:03 | 6:46 ± 0:06 | 0,262 ± 0,053 | 1,760 ± 0,43 |
| MMPA80 | 0:43 ± 0:00 | 3:48 ± 0:19 | 0,140 ± 0,052 | 1,948 ± 0,259 |

Se observa que a medida que aumenta el contenido de relleno, sean micropartículas de madera (MPM) y/o nanoarcilla, aumenta el torque máximo (Nm máx.), lo que indica un efecto reforzante a causa de los rellenos relleno. Se aprecia además que no hay cambios significativos en los tiempos de vulcanización (t_{90}). Esto indica que el aumento del contenido del material de relleno no afecta el proceso de entrecruzamiento. Comparando estos resultados de t_{90} con los del estudio de (Hong *et al.* 2011), en ambos casos el aumento del relleno aumenta los tiempos de vulcanización. Sin embargo, en las mezclas MMP80 hay una reducción de 51s del t_{90} , y en la mezcla MMPA80 se observa una reducción de 3:49 min, lo cual se debe a la adición de PEG-1500 y de nanoarcilla.

3.2. Propiedades físicas y mecánicas

3.2.1. Índice de resistencia a la abrasión

La Figura 2 presenta el índice de resistencia a la abrasión (ARI) del caucho natural CMS 70° vulcanizado (MA0) y de los compuestos de caucho con contenido de nanoarcilla (MA10-MA30).

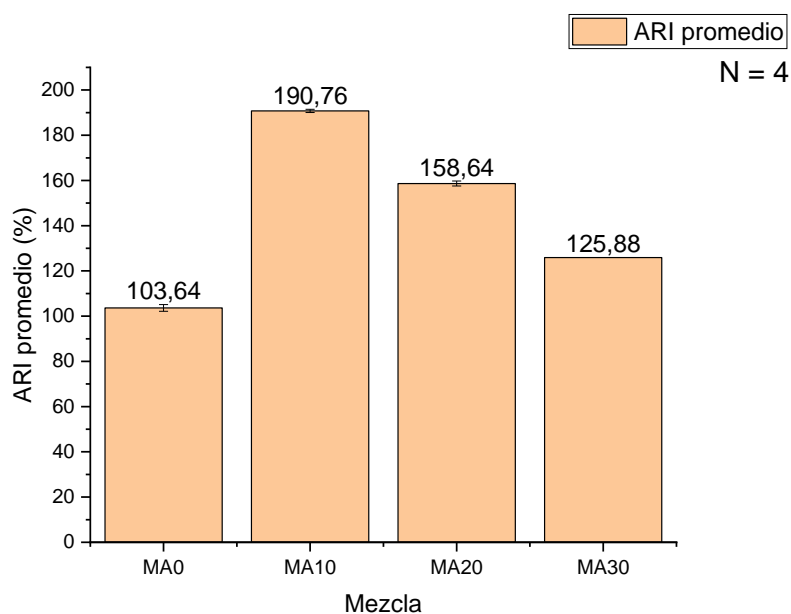


Figura 2. Representación de los resultados que fueron obtenidos en el ensayo de índice de Resistencia a la Abrasión (ARI), promedio de las Mezclas-Arcilla y su desviación estándar.

Se observa un aumento del ARI al añadir 10 phr de nanoarcilla, luego al acentuar la cantidad del relleno se ve una disminución gradual del ARI en las mezclas con 20 y 30 phr de carga. Estos resultados son comparables al estudio de (Bacarin *et al.* 2020), donde se observa un aumento de la resistencia a la abrasión a los 10 phr y luego esta resistencia se ve disminuida a los 20 y 30 phr. Sin embargo, en este estudio utilizaron residuos granulados (11-12 pH) de la industria celulosa. Además (Tabsan *et al.* 2010) reportan un aumento de la resistencia a la abrasión al añadir como relleno cantidades de 10 phr de

Montmorillonita prístina (Na⁺-MMT) y lo mismo para el relleno de 10 phr de Montmorillonita modificada orgánicamente (OMMT).

La Figura 3 presenta el índice de resistencia a la abrasión (ARI) de caucho natural SGR-10 vulcanizado (MM0) y compuestos de caucho con contenido de MPM (MM10-MMPA80).

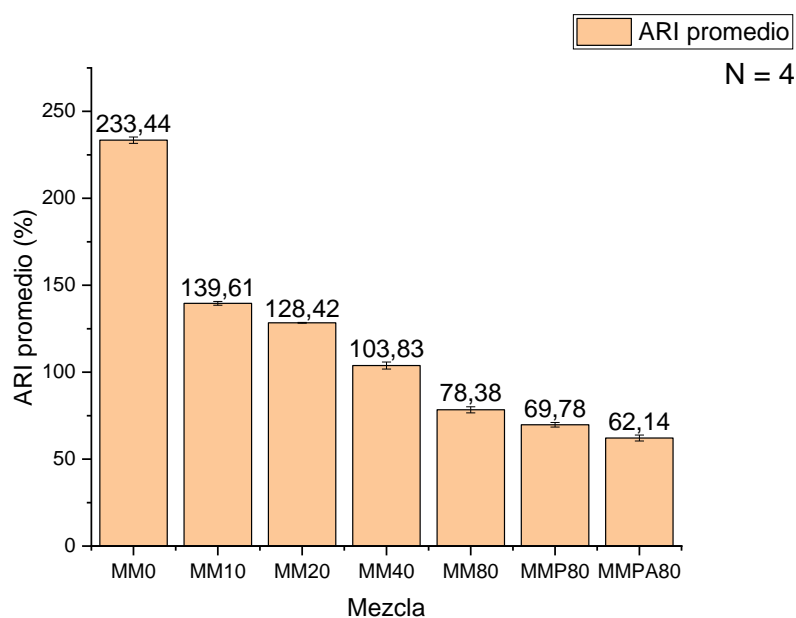


Figura 3. Representación de los resultados que fueron alcanzados en el ensayo de índice de Resistencia a la Abrasión (ARI) promedio de las Mezclas-Madera y su desviación estándar.

Se aprecia que al añadir 10 phr de MPM el ARI disminuye de forma drástica en 93,83 puntos. Además, al aumentar el contenido de MPM en las mezclas de 20 a 80 phr, como también añadiendo contenido de PEG-1500 y/o arcilla 10 phr existe una pérdida gradual del ARI. En los estudios de (Jiang *et al.* 2020) reportan una pérdida menor al aumentar el contenido en 10 phr de nanocelulosa cristalina en la matriz de caucho, lo que indica un mejor desempeño de este relleno al tener un tamaño de partícula menor como además una mejor afinidad por la preparación del mismo.

3.2.2. Dureza Shore A

La Figura 4 muestra la dureza Shore A de caucho natural CMS 70° vulcanizado (MA0) y los compuestos de caucho con contenido de nanoarcilla orgánicamente modificada (MA10-MA30).

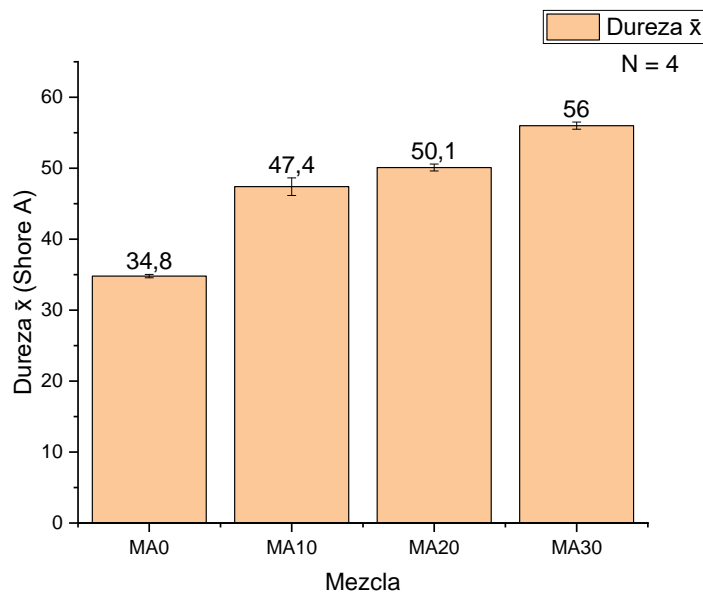


Figura 4. Representación de la Dureza promedio (Shore A) que fue conseguida en la serie Mezclas-Arcilla y su desviación estándar.

Se aprecia un aumento gradual de la Dureza al aumentar el contenido de en 10-30 phr del relleno de nanoarcilla. Esto se fundamenta en el efecto reforzante del relleno de nanoarcilla. Además (Viet *et al.* 2008) reportan una Dureza Shore A de 48 utilizando nanoarcilla montmorillonita modificada con 15-30 % en peso de octadecilamina como relleno a los 10 phr.

La Figura 5 muestra la dureza Shore A del caucho natural SGR-10 vulcanizado y compuestos de caucho con contenido de MPM (MM10-MMPA80).

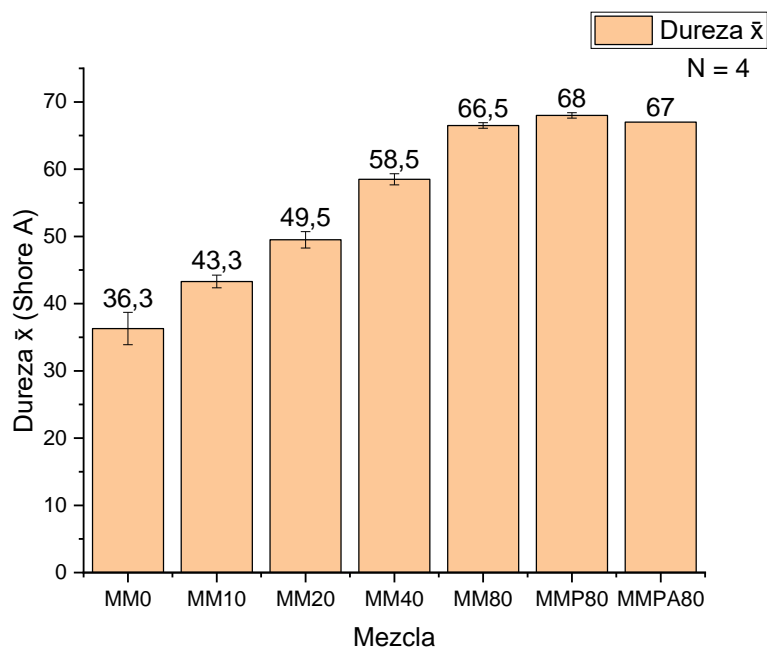


Figura 5. Representación de la Dureza promedio (Shore A) que fue alcanzada en la serie Mezclas-Madera y su desviación estándar.

Se observa un aumento de la dureza al incrementar el contenido del relleno de micropartículas 10-80 phr. En las últimas 2 mezclas (MMP80-MMPA80) no hay una variación de respecto a MM80, a pesar de corresponder a formulaciones diferentes. Esto sugiere que la dureza va a estar determinada por aquel material de relleno que se encuentra en mayor proporción. Es pertinente mencionar que el desempeño de la dureza de las mezclas MM10 y MM20 es comparable al trabajo de (Hong *et al.* 2011) donde utilizaron láminas de NR mezclado con micropartículas de álamo con 100-400 μm y obtuvieron una dureza Shore A de 48 y 52 en mezclas con 10 y 20 phr respectivamente. Además, (Ismail *et al.* 2002) exploran el uso de caucho natural SMR L mezclado con partículas de bambú de 180-270 μm donde reportan durezas Shore A de 41 y 49 para 10 y 20 phr respectivamente.

3.2.3. Resiliencia (%)

La Figura 6 muestra la resiliencia promedio del caucho natural CMS 70° y los compuestos de caucho con contenido de nanoarcilla (MA10-MA30).

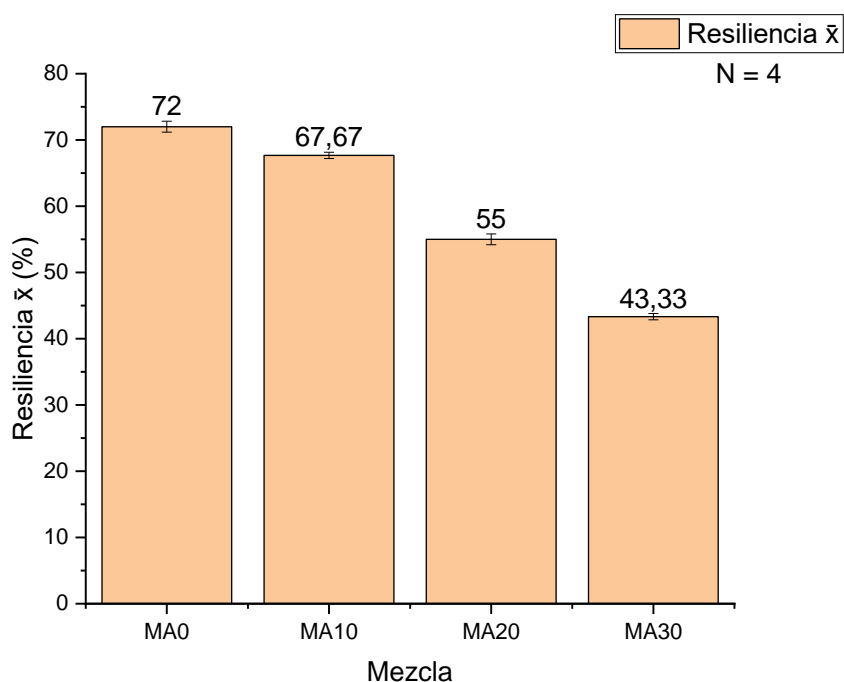


Figura 6. Representación de Resiliencia promedio (%) que fue obtenida en las Mezclas-Arcilla y su desviación estándar.

En el gráfico se aprecia una disminución gradual de la Resiliencia en función del aumento del relleno de nanoarcilla, esto debido al efecto reforzante. Como reportan (Vishvanathperumal y Anand 2021), la incorporación de partículas de relleno en materiales de caucho produce una mejora de la dureza y una reducción de la resiliencia de rebote, especialmente con una alta concentración de relleno. Ellos en este estudio utilizan rellenos de nanosílice y obtienen que al aumentar la cantidad de relleno disminuye de forma gradual la resiliencia.

La Figura 7 muestra la resiliencia promedio del caucho natural SGR-10 vulcanizado y los compuestos de caucho con contenido de micropartículas de madera (MM10-MMPA80).

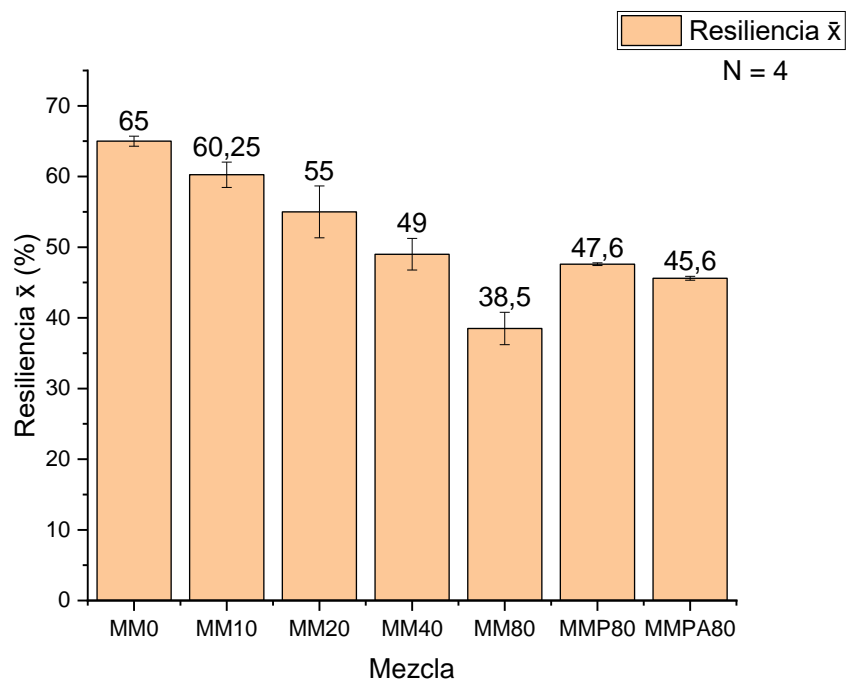


Figura 7. Resultados obtenidos de Resiliencia promedio (%) alcanzada en las Mezclas-Madera y su desviación estándar.

Se observa una disminución gradual de la resiliencia al aumentar el contenido de MPM en la mezcla MM0 hasta la mezcla MM80, esto es debido al efecto reforzante de las cargas de MPM, el cual disminuye de forma proporcional la resiliencia al aumentar el contenido de relleno. Sin embargo, la incorporación de PEG-1500 aumentó la resiliencia en 9,1 y en 7,1 en MMP80 y MMPA80, respectivamente. Esto es gracias al efecto de las cadenas hidrofílicas del PEG-1500, el cual tiene presenta buena afinidad con las partículas de madera, además (Cui *et al.* 2012) reportan que gracias al uso de hidrogeles combinados con PEG se obtienen mejores resultados de resiliencia en las combinaciones que tenían mayor cantidad de PEG.

3.2.4. Compresión Set.

La Figura 8 muestra el porcentaje de la deformación original promedio por compresión del caucho natural CMS 70° vulcanizado y los compuestos de caucho con contenido de nanoarcilla (MA10-MA30).

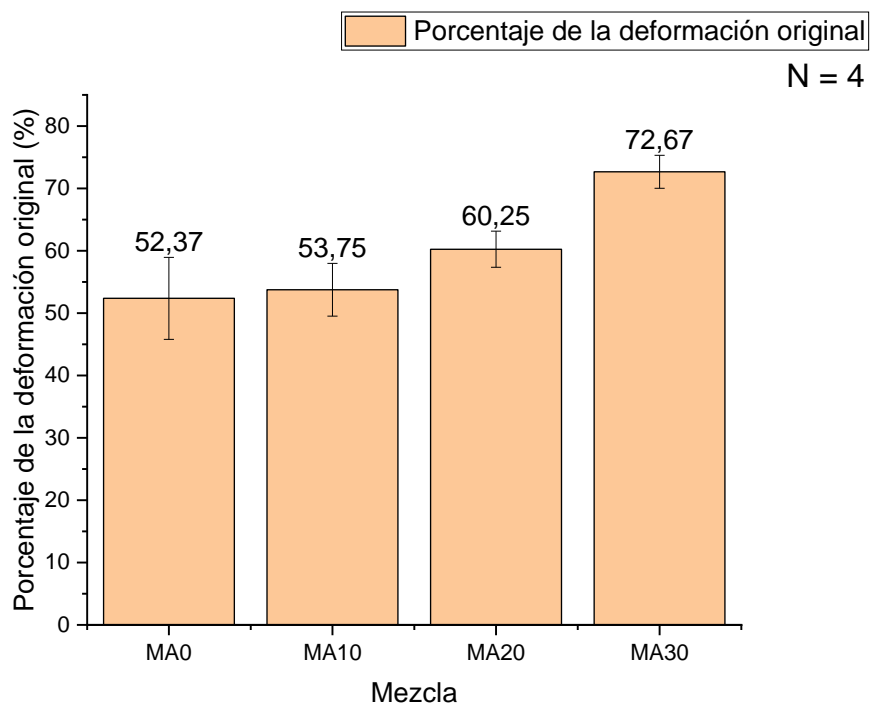


Figura 8. Representación del porcentaje de la deformación original promedio que se obtuvieron de las Mezclas-Arcilla y su desviación estándar.

Se aprecia la pérdida de volumen gradual al aumentar el contenido de relleno de nanoarcilla. Empero, los resultados obtenidos por (Teh *et al.* 2006) indican una pérdida de volumen en torno al 50% a los 10 phr en la mezcla, utilizando NR SGR L mezclado con arcilla montmorillonita modificada con sal de octadeciltrimetilamonio.

La Figura 9 muestra el porcentaje de la deformación original promedio por compresión del caucho natural SGR-10 vulcanizado y los compuestos de caucho con contenido de micropartículas de madera (MM10-MMPA80).

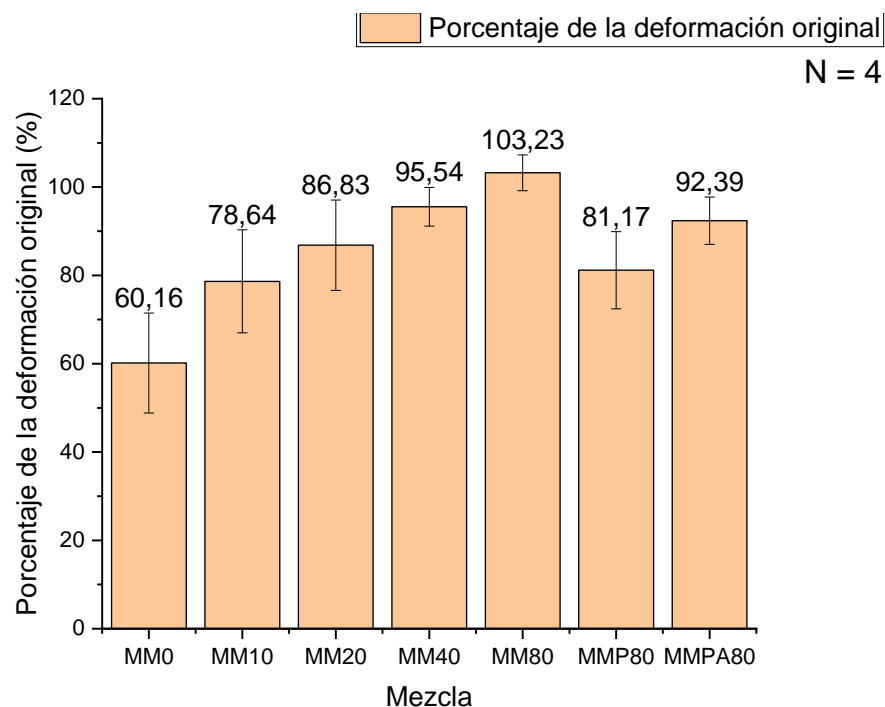


Figura 9. Representación del porcentaje de la deformación original promedio de las Mezclas-Madera y su desviación estándar.

Se puede apreciar que el porcentaje de la deformación original promedio por compresión es mayor a mayores contenidos de micropartículas de madera. Se observa un aumento gradual de esta pérdida en el rango de contenidos entre 10 phr y 40 phr. Formulaciones con contenidos por sobre 40 phr tienden a presentar pérdida de volumen por compresión comparables entre sí. Las diferencias marginales que hay entre ellas se podría atribuir a las distintas formulaciones de las muestras MM80, MMP80 y MMPA80.

3.2.5. Ensayo de tensión-deformación

Con el fin de determinar las propiedades mecánicas de los compuestos de las mezclas de la serie-arcillas y la serie-MPM se realizaron ensayos de tensión deformación de los compuestos de caucho. La Figura 10 presenta los resultados de los ensayos de tensión deformación de las muestras de caucho natural CMS 70° vulcanizado y compuestos de caucho con contenido de arcilla (MA0-MA30).

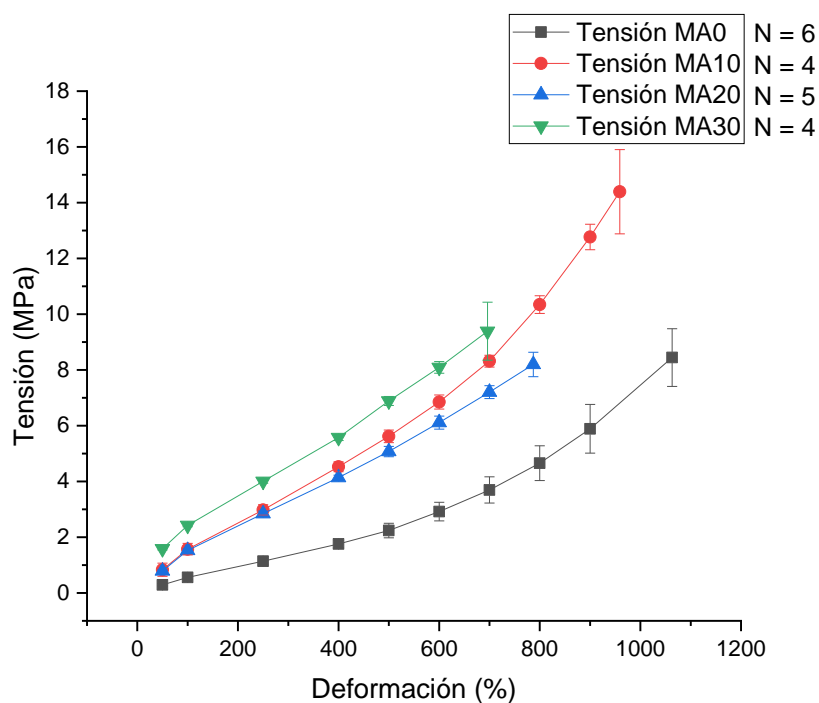


Figura 10. Gráfico de tensión-deformación obtenido desde los compuestos de la serie-nanoarcilla.

Se aprecia que, al aumentar el contenido de nanoarcilla, se ve reducido el porcentaje de deformación, lo que se debe a la formación de agregados con fuerza de interacción partícula-partícula, es decir, fuerza de cohesión, que es mayor a la fuerza de interacción entre partícula-polímero (Bacarin *et al.* 2020). Esto conduce a la formación de centros de falla, que promueven la rotura del material al ser elongado. En los estudios de (Hrachová

et al. 2013) muestran resultados comparables de la elongación al añadir arcillas orgánicamente modificadas con organocaciones de diferentes largos de cadenas.

La Figura 11 presenta los resultados de los ensayos de tensión deformación de las muestras de compuestos de caucho natural SGR-10 con contenido de micropartículas de madera (MM0-MM40).

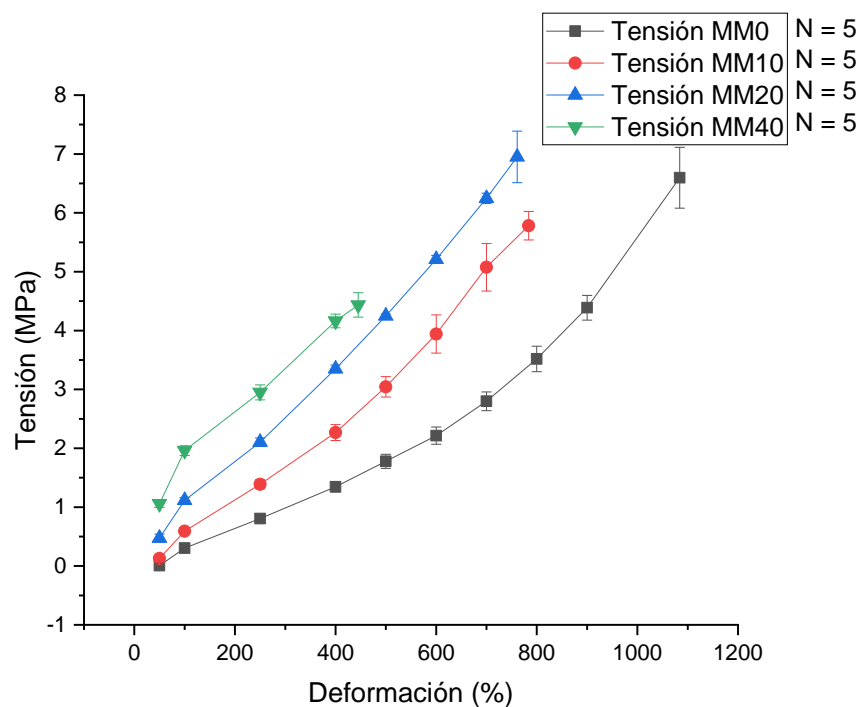


Figura 11. Gráfico de tensión-deformación obtenido desde los compuestos de la serie-madera (MM0-MM40).

En el gráfico notamos que al igual que en la gráfica de la serie de nanoarcilla, hay una disminución de la deformación que es proporcional al aumento del contenido del relleno de MPM. Esto ocurre por la naturaleza hidrofílica y polar del relleno, siendo contrastante la polaridad del caucho natural, un compuesto apolar (Sahin 2008).

La Figura 12 presenta los resultados de los ensayos de tensión deformación de las muestras de compuestos de caucho natural SGR-10 con contenido de micropartículas de madera (MM80-MMPA80).

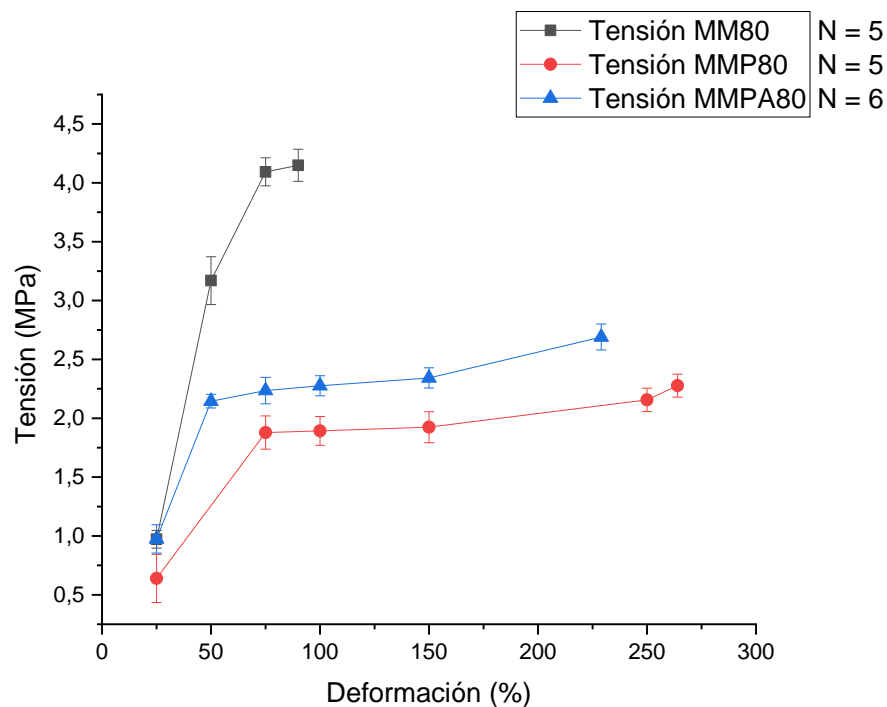


Figura 12. Gráfico de tensión-deformación obtenido desde los compuestos de la serie-madera (MM80-MMPA80).

Se aprecia que, al aumentar el relleno de 40 phr a 80 phr, la deformación disminuye de forma drástica en la mezcla MM80. Sin embargo, notamos que gracias al efecto de añadir a la mezcla el compuesto PEG-1500 aumenta la deformación de forma considerable. Esto se debe que el PEG-1500 tiene afinidad con los componentes de la madera y con el caucho natural, lo que tiene lugar por las tipos de enlace éter y enlaces simples de carbono (Cui *et al.* 2012).

3.2.6. Análisis calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las Tablas 6 y 7 presenta el cambio de calor específico y la temperatura de transición vítrea (T_g) determinados la calorimetría diferencial de barrido de las muestras de caucho natural y compuestos de caucho (MM0 y MM80).

Tabla 6. Parámetros del análisis de calorimetría diferencial de barrido para mezcla MM0.

| Temperatura de transición vítrea | de MM0 antes de la biodegradación | de la MM0 ensayo con <i>P. ostreatus</i> . | de MM0 degradado con <i>T. versicolor</i> . |
|----------------------------------|-----------------------------------|--|---|
| T_g | -59,8 °C | -59,0 °C | -58,9 °C |
| ΔC_p^* | 0,311 J/(g*K) | 0,348 J/(g*K) | 0,355 J/(g*K) |

Tabla 7. Parámetros del análisis de calorimetría diferencial de barrido para mezcla MM80.

| Temperatura de transición vítrea | de MM80 antes de la biodegradación | de la MM80 ensayo con <i>P. ostreatus</i> . | de MM80 ensayo con <i>T. versicolor</i> . |
|----------------------------------|------------------------------------|---|---|
| T_g | -59,9 °C | -59,7 °C | -59,2 °C |
| ΔC_p^* | 0,214 J/(g*K) | 0,261 J/(g*K) | 0,244 J/(g*K) |

Los resultados obtenidos en la Tabla 6 y la Tabla 7 muestran la temperatura de transición vítrea (T_g), en los que se puede observar que no existen cambios significativos, y sus valores fluctúan entre -58,9 y -59,9 °C. Esto indica que el contenido de relleno y el efecto de los hongos degradadores de madera no afectan las propiedades elastoméricas del caucho natural.

3.2.7. Ensayo de hinchazón por agua

La Figura 13 presenta un ensayo de absorción de agua en función del tiempo de piezas de caucho natural y compuestos con contenido de MPM y/o arcilla.

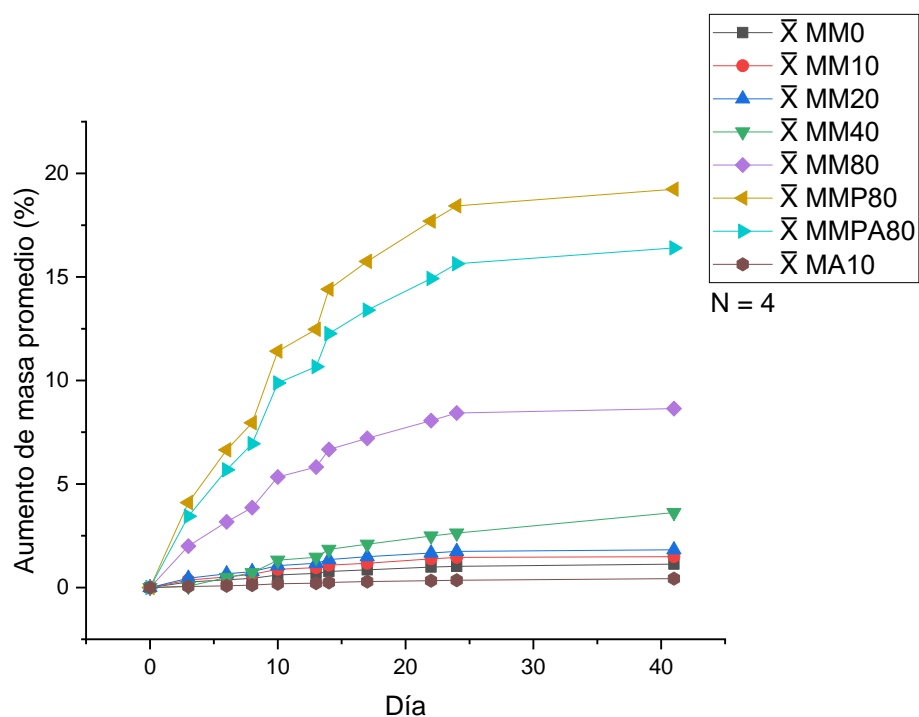


Figura 13. Representación del aumento de masa promedio en porcentajes durante los 41 días del ensayo.

En la Figura 13, se aprecia que, al aumentar el contenido de MPM, aumenta de forma proporcional la cantidad de masa obtenida por agua debido a la naturaleza hidrofílica de las MPM (Sahin 2008). Además, se observa que al añadir arcilla a las mezclas (MA10 y MMPA80), se ve disminuida el aumento de masa por agua. Sin embargo, la mezcla MMP80 fue la que obtuvo el mayor aumento de masa, este comportamiento se explica por el contenido de PEG-1500 añadido a la matriz (Cui *et al.* 2012). La menor absorción de agua para los compuestos de caucho con contenido de nanoarcilla se atribuye a que esta aumenta las propiedades de barrera de los compuestos (Sun *et al.* 2007, Najafi *et al.* 2018).

3.3. Ensayo en cámara húmeda

La Figura 14 presenta imágenes correspondientes al ensayo que se realizó para obtener resultados sobre la inocuidad del caucho natural antes de ser vulcanizado.

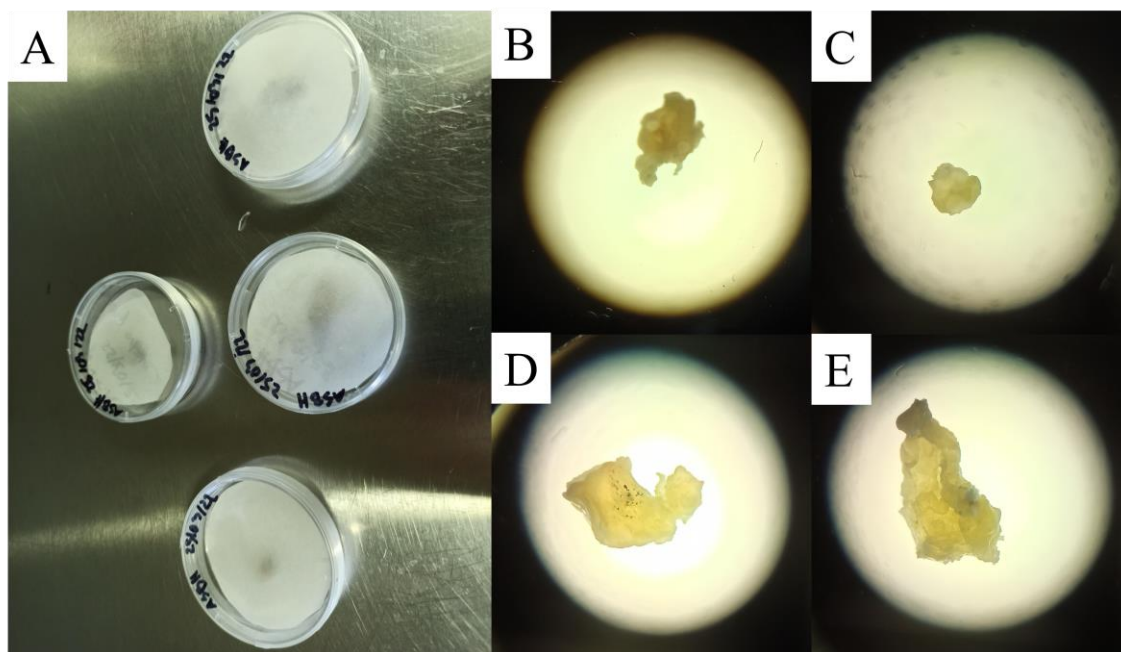


Figura 14. Metodología utilizada para este ensayo. A: Placas de Petri utilizadas como cámara húmeda durante 30 días. B-C-D-E: trozos de caucho natural bajo microscopio (40x).

Se observa que no hay crecimiento de microorganismos sobre los trozos de caucho natural. En la figura D y E se aprecian trozos de caucho con pequeñas partículas negras y una zona manchada, de forma respectiva, lo que corresponde a fracciones de negro de humo que accidentalmente se incorporaron en el proceso de precipitado del caucho.

3.4. Ensayos biológicos cuantitativos

Ensayos biológicos correspondientes a cultivos fúngicos, se realizaron con el fin de evaluar la degradación de los compuestos de la serie-MPM, por medio de hongos de pudrición blanca.

3.4.1. Evaluar degradación de discos de caucho

La Figura 15 presenta la pérdida de masa promedio de muestras de caucho natural y compuestos de caucho expuestos a cultivos fúngicos en placas Petri durante 50 días.

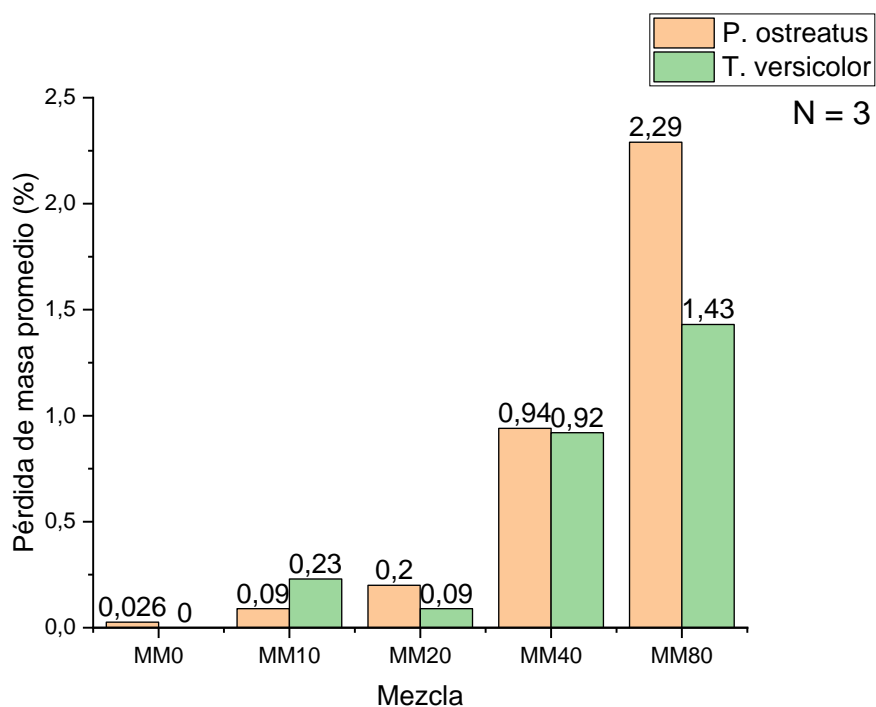


Figura 15. Gráfico que representa la pérdida de masa promedio de las mezclas MM0-MM80 por efecto de los organismos fúngicos *P. ostreatus* y *T. versicolor* después de 50 días de incubación en placas de Petri.

Como se puede apreciar en la Figura 15, *P. ostreatus* tiene promueve perdidas en masa superior a las de *T. versicolor* para la muestra MM80. Si bien en los estudios de biodegradación de compuestos de caucho previos realizados en otras investigaciones

(Sareena *et al.* 2014) se realizan enterrando en el suelo los trozos de caucho (*soil burial test*), no se tiene certeza de qué organismos están participando de la degradación, ya que en esos sustratos existe una gran variedad de microorganismos como Actinobacterias y hongos. Por lo tanto, de estos resultados se desprende que los hongos de pudrición blanca degradaron una fracción de los compuestos de NR mezclados con MPM. Por ejemplo (Sareena *et al.* 2014) reportan pérdida de masa entre 0,25% y 0,4% aproximadamente en caucho natural mezclado con 10 phr de harina de coco después de 50 días. Además, reportan pérdida de masa de 0,3% y 0,5% con 40 phr de relleno a los 50 días de degradación. Es por esto por lo que la metodología utilizada en este estudio tiene rendimientos que son superiores. *P. ostreatus* fue el hongo que tuvo mejor desempeño en la degradación de los discos de cauchos desde las mezclas con 80 phr de MPM.

3.4.2. Evaluar degradación de mezclas contrastantes (0 phr y 80 phr).

La Figura 16 presenta la pérdida de masa promedio de muestras de caucho natural y compuestos de caucho expuestos a cultivos fúngicos en placas Petri durante 50 días.

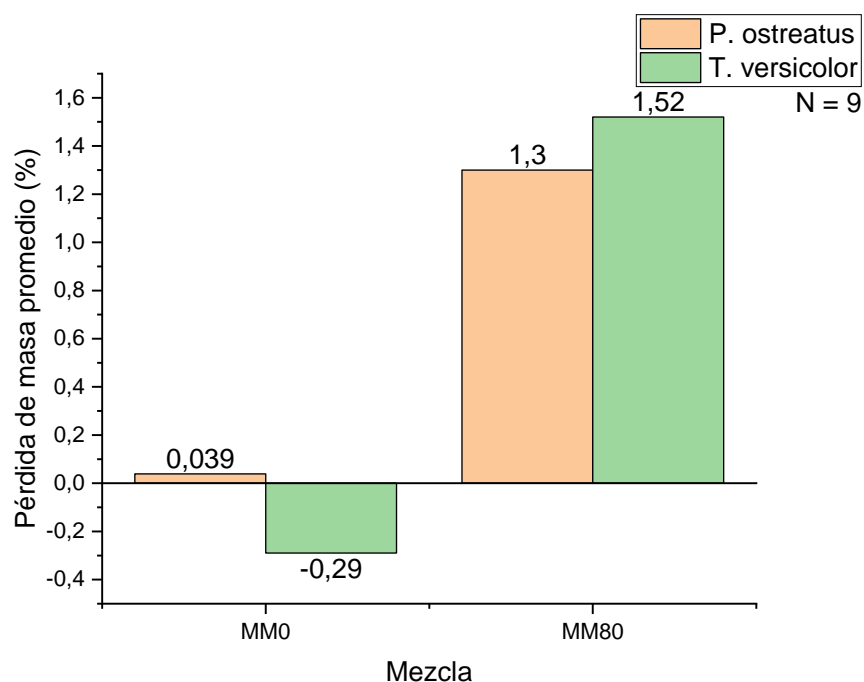


Figura 16. Gráfico que representa la pérdida de masa promedio de las mezclas MM0 y MM80 por efecto de los organismos fúngicos *P. ostreatus* y *T. versicolor* después de 50 días de incubación en placas de Petri.

En este ensayo se puede observar un comportamiento similar en el ensayo anterior. En este ensayo es posible contrastar la pérdida de peso por efecto de los hongos degradadores de madera en las mezclas de caucho natural puro y las mezclas con un contenido de 80 phr de MPM. Sin embargo, se observa que en la mezcla MM0 que fue degradada por *T. versicolor* tiene ganancia de masa, esto se debe a un error en la limpieza de los discos, lo que indicaría presencia de micelio fúngico en los discos.

3.4.3. Cultivos en medios líquidos

La Figura 17 presenta la pérdida de masa promedio de muestras de caucho natural y compuestos de caucho expuestos a cultivos fúngicos líquidos durante 45 días.

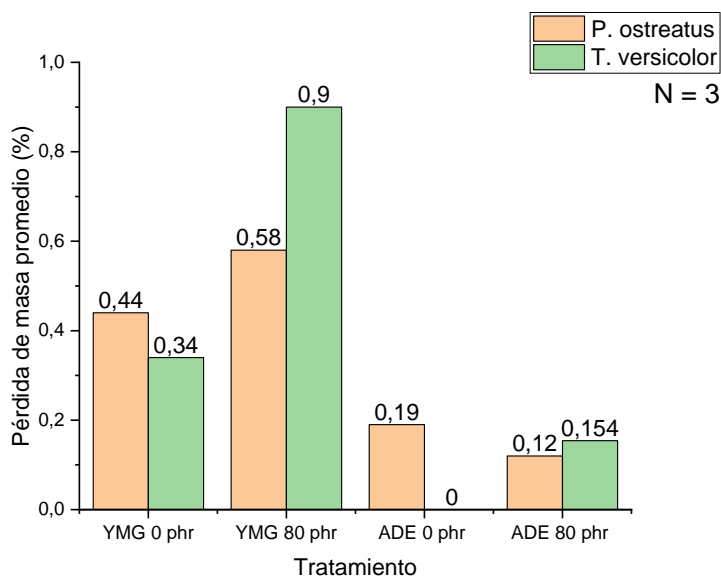


Figura 17. Gráfico que representa la pérdida de masa promedio de las mezclas MM0 y MM80 por efecto de los organismos fúngicos *P. ostreatus* y *T. versicolor* después de 45 días de degradación en medios de cultivos líquidos (YMG y ADE).

En este ensayo se observa una diferencia del efecto de los medios de cultivo, siendo el medio de cultivo YMG el más efectivo por su contenido de nutrientes. Esto se explica porque los organismos fúngicos en el medio ADE no pudieron proliferar de forma óptima al tener solamente los compuestos de caucho natural (MM0 y MM80) como sustrato disponible. Además, se reporta la pérdida de peso de las mezclas puras de caucho natural (MM0) en medio YMG, lo que puede explicar el efecto de detoxificación de los hongos degradadores de madera sobre los aditivos y acelerantes utilizados en el sistema de vulcanización, siendo resultados interesantes para realizar análisis como la Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR). Además para confirmar la biodegradación se deben hacer ensayos enzimáticos como los reportados en los estudios de (Fernandes *et al.* 2005) o microscopía electrónica de barrido (SEM).

IV. CONCLUSIONES

Compuestos de caucho natural (NR) con contenido de nanoarcilla CLOISITE 20 A y/o micropartículas de madera (MPM) presentaron curvas de vulcanizados comparables a la del caucho sin carga fueron obtenidos en este estudio.

Se determinó el efecto de rellenos de origen natural como la nanoarcilla y las MPM sobre las propiedades físicas. A saber, aumento de la dureza o la disminución de la resiliencia por efecto de los rellenos.

Además, el efecto del polietilenglicol 1500 sobre las MPM logró mejorar el desempeño en la resiliencia, absorción de agua y en las propiedades mecánicas (tensión-deformación). Los ensayos *in vitro* con hongos de pudrición blanca para la biodegradación de los compuestos con cargas de MPM tuvieron un desempeño hasta los 2,29 % de pérdida de masa tras 50 días de incubación.

V. BIBLIOGRAFÍA

1. Abd-El-Aziz A.S., M. Antonietti, C. Barner-Kowollik, W.H. Binder, A. Boker, C. Boyer, M.R. Buchmeiser, S.Z.D. Cheng, F. D'Agosto, G. Floudas, H. Frey, G. Galli, J. Genzer, L. Hartmann, R. Hoogenboom, T. Ishizone, D.L. Kaplan, M. Leclerc, A. Lendlein, B. Liu, T.E. Long, S. Ludwigs, J.F. Lutz, K. Matyjaszewski, M.A.R. Meier, K. Mullen, M. Mullner, B. Rieger, T.P. Russell, D.A. Savin, A.D. Schluter, U.S. Schubert, S. Seiffert, K. Severing, J.B.P. Soares, M. Staffilani, B.S. Sumerlin, Y.M. Sun, B.Z. Tang, C.B. Tang, P. Theato, N. Tirelli, O.K.C. Tsui, M.M. Unterlass, P. Vana, B. Voit, S. Vyazovkin, C. Weder, U. Wiesner, W.Y. Wong, C. Wu, Y. Yagci, J.Y. Yuan, G.Z. Zhang. 2020. The Next 100 Years of Polymer Science. *Macromolecular Chemistry and Physics* 221(16).
2. Abdullah I., S. Ahmad, C.S. Sulaiman. 1995. Blending of natural-rubber with linear low density polyethylene. *Journal of Applied Polymer Science* 58(7): 1125-1133.
3. Amaral A.D., A. Ferreira, J.L.D. Bentes. 2022. Fungal endophytic community associated with *Hevea* spp.: diversity, enzymatic activity, and biocontrol potential. *Brazilian Journal of Microbiology* 53(2): 857-872.
4. Aziana A.H., M.Y. Amir-Hashim, S.W. Zuhainis. 2015. Efficiency of Commercial Biological Compounds as Anticoagulant Agents in Natural Rubber Latex. *Journal of Rubber Research* 18(2): 72-86.
5. Bacarin G.B., G. Dognani, R.J. dos Santos, M.G. Meirelles, T.F. Rodrigues, C.R. Klauck, M.A.S. Rodrigues, V.D. Jahno, F.C. Cabrera, A.E. Job. 2020. Natural rubber composites with Grits waste from cellulose industry. *Journal of Material Cycles and Waste Management* 22(4): 1126-1139.
6. Barrasa J.M., A.T. Martinez, M.J. Martinez. 2009. Isolation and Selection of Novel Basidiomycetes for Decolorization of Recalcitrant Dyes. *Folia Microbiologica* 54(1): 59-66.
7. Bauer T., R. Glaeser. 1977. Structure ultrastructure, and biochemistry of polyisoprenoid biosynthesis in *parthenium-argentatum* (guayule). *Journal of Electron Microscopy* 26(2): 176-177.
8. Bernardini C., S.D. Stoyanov, L.N. Arnaudov, M.A.C. Stuart. 2013. Colloids in Flatland: a perspective on 2D phase-separated systems, characterisation methods, and lineactant design. *Chemical Society Reviews* 42(5): 2100-2129.

9. Bottier C. 2020. Biochemical composition of *Hevea brasiliensis* latex: A focus on the protein, lipid, carbohydrate and mineral contents. pp. 201-237. En: *Latex, Laticifers and Their Molecular Components: From Functions to Possible Applications*, Vol. 93, (Nawrot R., ed).
10. Bredberg K., B.E. Andersson, E. Landfors, O. Holst. 2002. Microbial detoxification of waste rubber material by wood-rotting fungi. *Bioresource Technology* 83(3): 221-224.
11. Bukhina M.F., S.K. Kurlyand. 2007. Low-Temperature Behaviour of Elastomers. pp. 1-187. En: *Low-Temperature Behaviour of Elastomers*.
12. Cho K.M., B. Goldstein, D. Gounaridis, J.P. Newell. 2022. Hidden risks of deforestation in global supply chains: A study of natural rubber flows from Sri Lanka to the United States. *Journal of Cleaner Production* 349.
13. Chou L.-H., C.-N. Lin, C.-K. Lu, C.-H. Lee, M.-T. Lee. 2010. Improving rubber concrete by waste organic sulfur compounds. *Waste Management & Research* 28(1): 29-35.
14. Cornish K. 2014. Biosynthesis of natural rubber (NR) in different rubber-producing species. 3-29 p.
15. Cowie J.M.G., V. Arrighi. 2007. *Polymers: chemistry and physics of modern materials*. CRC press. p.
16. Cui J., M.A. Lackey, A.E. Madkour, E.M. Saffer, D.M. Griffin, S.R. Bhatia, A.J. Crosby, G.N. Tew. 2012. Synthetically Simple, Highly Resilient Hydrogels. *Biomacromolecules* 13(3): 584-588.
17. Cui L., Z. Wang, Y. Zeng, N. Yang, M. Liu, Y. Zhao, Y. Zheng. 2022. Lignin Biodegradation and Its Valorization. *Fermentation-Basel* 8(8).
18. Dong P., T. Maneerung, W.C. Ng, X. Zhen, Y. Dai, Y.W. Tong, Y.-P. Ting, S.N. Koh, C.-H. Wang, K.G. Neoh. 2017. Chemically treated carbon black waste and its potential applications. *Journal of Hazardous Materials* 321: 62-72.
19. Ebewele R.O. 2000. *Polymer science and technology*. CRC press. p.
20. Eshwaran S.B., D. Basu, S.R. Vaikuntam, B. Kutlu, S. Wiessner, A. Das, K. Naskar, G. Heinrich. 2015. Exploring the Role of Stearic Acid in Modified Zinc Aluminum Layered Double Hydroxides and Their Acrylonitrile Butadiene Rubber Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science* 132(9).
21. Fazli A., D. Rodrigue. 2020. Waste Rubber Recycling: A Review on the Evolution and Properties of Thermoplastic Elastomers. *Materials* 13(3).

22. Feldman D. 2008. Polymer history. *Designed Monomers and Polymers* 11(1): 1-15.
23. Fernandes L., C. Loguercio-Leite, E. Esposito, M. Menezes Reis. 2005. In vitro wood decay of *Eucalyptus grandis* by the basidiomycete fungus *Phellinus flavomarginatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 55(3): 187-193.
24. Goldfein M.D., A.V. Ivanov, M.D. Goldfein, A.V. Ivanov. 2016. Problems of environmental pollution with polymers. 329-405 p.
25. Gonzalez L., A. Rodriguez, A. del Campo, A. Marcos-Fernandez. 2000. Some aspects on the crosslink reaction of natural rubber with dipentamethylene thiuram tetrasulfide. *Rubber Chemistry and Technology* 73(1): 89-100.
26. Goswami M., P. Bhattacharyya, P. Tribedi. 2017. Addition of Rubber to soil damages the functional diversity of soil. *3 Biotech* 7.
27. Guzman M., B. Vega, N. Agullo, U. Giese, S. Borros. 2012. Zinc oxide versus magnesium oxide revisited. Part 1. *Rubber Chemistry and Technology* 85(1): 38-55.
28. Hammel K.E., M.A. Moen. 1991. Depolymerization of a synthetic lignin invitro by lignin peroxidase. *Enzyme and Microbial Technology* 13(1): 15-18.
29. Hayeemasae N., S. Saiwari, S. Soontaranon, A. Masa. 2022. Influence of Centrifugation Cycles of Natural Rubber Latex on Final Properties of Uncrosslinked Deproteinized Natural Rubber. *Polymers* 14(13).
30. Hennon P.E. 1995. Are heart rot fungi major factors of disturbance in gap-dynamic forests? *Northwest Science* 69(4): 284-293.
31. Highley T.L. 1990. Laboratory studies on antagonism of *scytalidium-lignicola* to wood decay fungi. *Material Und Organismen* 25(3): 181-192.
32. Hocker H., H. Huthig, R.E. Bareiss, R. Wepf, W. Guth, B. Jung, I. Meisel. 1997a. Dr phil Magda Staudinger Voit - In memoriam. *Macromolecular Chemistry and Physics* 198(7): U6-U6.
33. Hocker H., H. Huthig, R. Wepf, R.E. Bareiss, W. Guth, B. Jung, I. Meisel. 1997b. In memoriam Dr phil Magda Staudinger Voit. *Macromolecular Theory and Simulations* 6(4): U5-U5.
34. Hong H., H. He, D. Jia, H. Zhang. 2011. Effect of Wood Flour on the Curing Behavior, Mechanical Properties, and Water Absorption of Natural Rubber/Wood Flour Composites. *Journal of Macromolecular Science, Part B* 50(8): 1625-1636.

35. Hrachová J., P. Komadel, D. Johec-Mošková, J. Krajčí, I. Janigová, M. Šlouf, I. Chodák. 2013. Properties of organo-clay/natural rubber nanocomposites: Effects of organophilic modifiers. *Journal of Applied Polymer Science* 127(5): 3447-3455.
36. Ibrahim S., K. Badri, C.T. Ratnam, N.H.M. Ali. 2018. Enhancing mechanical properties of pre-vulcanized natural rubber latex via hybrid radiation and peroxidation vulcanizations at various irradiation doses. *Radiation Effects and Defects in Solids* 173(5-6): 427-434.
37. Ismail H., M.R. Edyham, B. Wirjosentono. 2002. Bamboo fibre filled natural rubber composites: the effects of filler loading and bonding agent. *Polymer Testing* 21(2): 139-144.
38. Ivaneiko I., V. Toshchevnikov, S. Westermann, M. Saphiannikova. 2017. Multiscale Modeling Approach to Dynamic-Mechanical Behavior of Elastomer Nanocomposites. pp. 157-186. En: *Designing of Elastomer Nanocomposites: From Theory to Applications*, Vol. 275, (Stockelhuber K.W., A. Das, M. Kluppel, eds).
39. Jacobs C. 2009. Renal replacement therapy by hemodialysis: An overview. *Nephrologie & Therapeutique* 5(4): 306-312.
40. James H.M., E. Guth. 1996. Simple presentation of network theory of rubber, with a discussion of other theories. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics* 34(1): 7-36.
41. Jiang W., P. Shen, J. Yi, L. Li, C. Wu, J. Gu. 2020. Surface modification of nanocrystalline cellulose and its application in natural rubber composites. *Journal of Applied Polymer Science* 137(39): 49163.
42. Kazemi H., F. Mighri, D. Rodrigue. 2022. A Review of Rubber Biocomposites Reinforced with Lignocellulosic Fillers. *Journal of Composites Science* 6(7).
43. Kim I.J., D. Kim, B. Ahn, H.J. Lee, H.J. Kim, W. Kim. 2020. Vulcanizate Structures of SBR Compounds with Silica and Carbon Black Binary Filler Systems at Different Curing Temperatures. *Polymers* 12(10).
44. Kim N.K., J.Y. Park, M.S. Park, H. Lee, H.J. Cho, J.A. Eimes, C. Kim, Y.W. Lim. 2016. Five New Wood Decay Fungi (Polyporales and Hymenochaetales) in Korea. *Mycobiology* 44(3): 146-154.
45. Kluppel M. 1994. Finite chain extensibility and topological constraints in swollen networks. *Macromolecules* 27(24): 7179-7184.

46. Kolesnikova N.N., A.V. Baranova, Y.K. Lukanina, A.A. Popov. 2010. Melting and non-isothermal crystallization behavior of polyethylene, poly(ethylene-co-vinyl-acetate) and their blends with natural rubber. 351-356 p.
47. Kumar A., S. Sinha-Ray. 2018. A Review on Biopolymer-Based Fibers via Electrospinning and Solution Blowing and Their Applications. *Fibers* 6(3).
48. Leblanc J.L., J.F. Pilard, E. Pianhanuruk, I. Campistron, J.Y. Buzare. 2011. Characterizing Gum Natural Rubber Samples Through Advanced Techniques. *Journal of Applied Polymer Science* 119(5): 3058-3071.
49. Li B., W.-b. Chen, X. Huang, S.-l. Xia, F.-n. Zhang, S.-q. Wang, Y.-b. Wang. 2019. Modifications to Expose Porta Hepatis for Laparoscopic Portoenterostomy Easier in Biliary Atresia. *Journal of Surgical Research* 233: 368-375.
50. Li T., L. Cui, X. Song, X. Cui, Y. Wei, L. Tang, Y. Mu, Z. Xu. 2022. Wood decay fungi: an analysis of worldwide research. *Journal of Soils and Sediments* 22(6): 1688-1702.
51. Li Y., S. Zhao, Y. Wang. 2011. Microbial desulfurization of ground tire rubber by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Polymer Degradation and Stability* 96(9): 1662-1668.
52. Liao L.S., J.H. Liao, Y.M. Li, Y.P. Chen, Y.F. Zhao, C.Z. He. 2014. Curing kinetics and properties of natural rubber coagulated using microwave radiation. *Rubber Chemistry and Technology* 87(1): 43-52.
53. Liengprayoon S., L. Vaysse, S. Jantarasunthorn, K. Wadeesirisak, J. Chaiyut, S. Srisomboon, N. Musigamart, K. Rattanaporn, C. Char, F. Bonfils, C. Bottier. 2021. Distribution of the non-isoprene components in the four *Hevea brasiliensis* latex centrifugation fractions. *Journal of Rubber Research* 24(5): 759-769.
54. Martinez A.T., M. Speranza, F.J. Ruiz-Duenas, P. Ferreira, S. Camarero, F. Guillen, M.J. Martinez, A. Gutierrez, J.C. del Rio. 2005. Biodegradation of lignocellulosics: microbial chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International Microbiology* 8(3): 195-204.
55. McLaughlin D.J., D.S. Hibbett, F. Lutzoni, J.W. Spatafora, R. Vilgalys. 2009. The search for the fungal tree of life. *Trends in Microbiology* 17(11): 488-497.
56. Menz K., K. Ellis, C. Conroy, P. Grist. 1999. Fire as an economic disincentive to smallholder rubber planting in Imperata areas of Indonesia. *Environmental Modelling & Software* 14(1): 27-35.

57. Mignon E., S. Werbrouck. 2018. Somatic Embryogenesis as Key Technology for Shaping the Rubber Tree of the Future. *Frontiers in Plant Science* 9.
58. Moghimian N., S. Nazarpour. 2020. The Future of Carbon: An Update on Graphene's Dermal, Inhalation, and Gene Toxicity. *Crystals* 10(9).
59. Movahed S.O., A. Ansarifar, F. Mirzaie. 2015. Effect of Various Efficient Vulcanization Cure Systems on the Compression Set of a Nitrile Rubber Filled with Different Fillers. *Journal of Applied Polymer Science* 132(8).
60. Nair K.P.P., K.P.P. Nair. 2010. Rubber (*Hevea brasiliensis*). 237-273 p.
61. Najafi M., A. Darvizeh, R. Ansari. 2018. Effect of Nanoclay Addition on the Hygrothermal Durability of Glass/Epoxy and Fiber Metal Laminates. *Fibers and Polymers* 19(9): 1956-1969.
62. Namazi H. 2017. Polymers in our daily life. *Bioimpacts* 7(2): 73-74.
63. Nanthini J., K. Sudesh. 2017. Biodegradation of Natural Rubber and Natural Rubber Products by *Streptomyces* sp Strain CFMR 7. *Journal of Polymers and the Environment* 25(3): 606-616.
64. Parent L.R., K. Gnanasekaran, J. Korpanty, N.C. Gianneschi. 2021. 100th Anniversary of Macromolecular Science Viewpoint: Polymeric Materials by In Situ Liquid-Phase Transmission Electron Microscopy. *Acs Macro Letters* 10(1): 14-38.
65. Pattanasiriwisawa W., J. Siritapetawee, O. Patarapaiboolchai, W. Klysubun. 2008. Structural analysis of sulfur in natural rubber using X-ray absorption near-edge spectroscopy. *Journal of Synchrotron Radiation* 15: 510-513.
66. Percec V., Q. Xiao. 2020. From organic chemistry to chemical biology via macromolecules with Hermann Staudinger. *Giant* 4.
67. Phattarateera S., C. Pattamaprom. 2019. The Viscosity Effect of Masticated Natural vs. Synthetic Isoprene Rubber on Toughening of Polylactic Acid. *International Journal of Polymer Science* 2019.
68. Pilipovic A., A. Bakic, M. Rujnic-Sokele. 2010. Influence of crosslinking parameters on the quality of rubber product. *Tehnicki Vjesnik-Technical Gazette* 17(2): 185-190.
69. Premadasa R.B. 2022. The Association of Natural Rubber Producing Countries (ANRPC) releases the Monthly NR Statistical Report, April 2022. Citado disponible en <http://www.anrpc.org>.

70. Presley G.N., E. Panisko, S.O. Purvine, J.S. Schilling. 2018. Coupling Secretomics with Enzyme Activities To Compare the Temporal Processes of Wood Metabolism among White and Brown Rot Fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 84(16).
71. Qin X., H. Xu, G. Zhang, J. Wang, Z. Wang, Y. Zhao, Z. Wang, T. Tan, M.R. Bockstaller, L. Zhang, K. Matyjaszewski. 2020. Enhancing the Performance of Rubber with Nano ZnO as Activators. *Acs Applied Materials & Interfaces* 12(42): 48007-48015.
72. Qiu W., J. Liu. 2022. Fermenting and Lignin Degradability of a White-Rot Fungus *Coriopsis trogii* Using Industrial Lignin as Substrate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
73. Ringsdorf H. 2004. Hermann Staudinger and the future of polymer research jubilees - Beloved occasions for cultural piety. *Angewandte Chemie-International Edition* 43(9): 1064-1076.
74. Rodd A.L., C.J. Castilho, C.E.F. Chaparro, J. Rene Rangel-Mendez, R.H. Hurt, A.B. Kane. 2018. Impact of emerging, high-production-volume graphene-based materials on the bioavailability of benzo(a)pyrene to brine shrimp and fish liver cells. *Environmental Science-Nano* 5(9): 2144-2161.
75. Romine R.A., M.F. Romine. 1998. Rubbercycle: a bioprocess for surface modification of waste tyre rubber. *Polymer Degradation and Stability* 59(1-3): 353-358.
76. Sahin H.T. 2008. Wood-water interactions as affected by chemical constituents of woods. *Asian Journal of Chemistry* 20(4): 3267.
77. Sangwichien C., P. Sumanatrakool, O. Patarapaiboolchai. 2008. Effect of filler loading on curing characteristics and mechanical properties of thermoplastic vulcanizate. *Chiang Mai Journal of Science* 35(1): 141-149.
78. Sareena C., M.P. Sreejith, M.T. Ramesan, E. Purushothaman. 2014. Biodegradation behaviour of natural rubber composites reinforced with natural resource fillers - monitoring by soil burial test. *Journal of Reinforced Plastics and Composites* 33(5): 412-429.
79. Schmid M., A. Heinimann, J.G. Zaehring. 2021. Patterns of land system change in a Southeast Asian biodiversity hotspot. *Applied Geography* 126.
80. Schultes R.E. 1993. The Domestication of the Rubber Tree: Economic and Sociological Implications. *American Journal of Economics and Sociology* 52(4): 479-485.
81. Siler D.J., M. GoodrichTanrikulu, K. Cornish, A.E. Stafford, T.A. McKeon. 1997. Composition of rubber particles of *Hevea brasiliensis*, *Parthenium argentatum*, *Ficus elastica*, and *Euphorbia lactiflua* indicates unconventional surface structure. *Plant Physiology and Biochemistry* 35(11): 881-889.

82. Singh H.P., B.P. Singh. 2010. Natural Rubber. 358-383 p.
83. Singh M. 2018. The Colloidal Properties of Commercial Natural Rubber Latex Concentrates. *Journal of Rubber Research* 21(2): 119-134.
84. Sirisinha K., W. Kamphunthong, K. Srisawat. 2018. A comparison of natural rubber latex and polyethylene glycol as fiber carriers in melt-compounded polylactic acid/cellulose microfibril composites. *Journal of Elastomers and Plastics* 50(8): 697-709.
85. Skov A.L., P. Sommer-Larsen. 2008. Physical and chemical properties of dielectric elastomers. 25-32 p.
86. Smejda-Krzewicka A., W.M. Rzymiski, P. Dmowska-Jasek. 2017. Wood Flour as a Filler of Natural and Epoxidised Natural Rubber. pp. 485-491. En: *Deformation and Fracture Behaviour of Polymer Materials*, Vol. 247, (Grellmann W., B. Langer, eds).
87. Sobha S., K. Rekha, T.K. Uthup. 2019. Biotechnological Advances in Rubber Tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) Breeding. 179-236 p.
88. Sowani H., M. Kulkarni, S. Zinjarde. 2019. Harnessing the catabolic versatility of *Gordonia* species for detoxifying pollutants. *Biotechnology Advances* 37(3): 382-402.
89. Stonebloom S.H., H.V. Scheller. 2019. Transcriptome analysis of rubber biosynthesis in guayule (*Parthenium argentatum* gray). *Bmc Plant Biology* 19.
90. Sun Q., F.J. Schork, Y. Deng. 2007. Water-based polymer/clay nanocomposite suspension for improving water and moisture barrier in coating. *Composites Science and Technology* 67(9): 1823-1829.
91. Tabsan N., S. Wirasate, K. Suchiva. 2010. Abrasion behavior of layered silicate reinforced natural rubber. *Wear* 269(5): 394-404.
92. Tangboriboon N., S. Rortchanakarn, K. Petcharoen, A. Sirivat. 2016. Effects of Foaming Agents and Eggshell Calcium Carbonate (CaCO₃) Filler on Natural Rubber Foam Physical-Thermal - Mechanical Properties. *Journal of Rubber Research* 19(2): 71-96.
93. Tangboriboonrat P., C. Lerthittrakul. 2002. Morphology of natural rubber latex particles prevulcanised by sulphur and peroxide systems. *Colloid and Polymer Science* 280(12): 1097-1103.

94. Teh P.L., Z.A. Mohd Ishak, A.S. Hashim, J. Karger-Kocsis, U.S. Ishiaku. 2006. Physical properties of natural rubber/organoclay nanocomposites compatibilized with epoxidized natural rubber. *Journal of Applied Polymer Science* 100(2): 1083-1092.
95. Tertyshnaya Y., S. Karpova, M. Moskovskiy, A. Dorokhov. 2021. Electrospun Polylactide/Natural Rubber Fibers: Effect Natural Rubber Content on Fiber Morphology and Properties. *Polymers* 13(14).
96. Theja M.S.R., N. Kilari, S. Vishvanathperumal, V. Navaneethakrishnan. 2021. Modeling tensile modulus of nanoclay-filled ethylene-propylene-diene monomer/styrene-butadiene rubber using composite theories. *Journal of Rubber Research* 24(5): 847-856.
97. Tsuchii A., T. Suzuki, K. Takeda. 1985. Microbial-degradation of natural-rubber vulcanizates. *Applied and Environmental Microbiology* 50(4): 965-970.
98. Tsuchii A., Y. Tokiwa. 2001. Microbial degradation of tyre rubber particles. *Biotechnology Letters* 23(12): 963-969.
99. Tsuchii A., Y. Tokiwa. 2006. Microbial degradation of the natural rubber in tire tread compound by a strain of *Nocardia*. *Journal of Polymers and the Environment* 14(4): 403-409.
100. Vaneijs F.G.H., W.J. Aben. 1991. Microbial degradation resistance of natural rubber vulcanizates: Test method and physical-mechanical experiments. *Polymer Testing* 10(2): 145-154.
101. Vaysse L., F. Bonfils, P. Thaler, J. Sainte-Beuve. 2009. Natural Rubber. pp. 339-367. En: *Sustainable Solutions for Modern Economies*, Vol. 4, (Hofer R., ed).
102. Vaz A.B.M., P.L.C. Fonseca, F. Badotti, D. Skaltsas, L.M.R. Tome, A.C. Silva, M.C. Cunha, M.A. Soares, V.L. Santos, G. Oliveira, P. Chaverri, A. Goes-Neto. 2018. A multiscale study of fungal endophyte communities of the foliar endosphere of native rubber trees in Eastern Amazon. *Scientific Reports* 8.
103. Viet C.X., H. Ismail, A.A. Rashid, T. Takeichi, V.H. Thao. 2008. Organoclay Filled Natural Rubber Nanocomposites: The Effects of Filler Loading. *Polymer-Plastics Technology and Engineering* 47(11): 1090-1096.
104. Vishvanathperumal S., G. Anand. 2021. Effect of Nanosilica and Crosslinking System on the Mechanical Properties and Swelling Resistance of EPDM/SBR Nanocomposites with and without TESPT. *Silicon* 13(10): 3473-3497.
105. Williams G.R. 1984. A technique for measuring the microbial deterioration of vulcanized rubber. *International Biodeterioration* 20(4): 255-258.

106. Wunde M., M. Klueppel. 2021. Review on the Role of Phase Morphology and Energy Dissipation Around the Crack Tip During Fatigue Crack Propagation of Filler-Reinforced Elastomer Blends. pp. 245-271. En: Fatigue Crack Growth in Rubber Materials: Experiments and Modelling, Vol. 286, (Heinrich G., R. Kipscholl, R. Stoczek, eds).
107. Yantaboot K., T. Amornsakchai. 2017. Effect of preparation methods and carbon black distribution on mechanical properties of short pineapple leaf fiber-carbon black reinforced natural rubber hybrid composites. *Polymer Testing* 61: 223-228.
108. Zhen X., W.C. Ng, Fendy, Y.W. Tong, Y. Dai, K.G. Neoh, C.-H. Wang. 2017. Toxicity assessment of carbon black waste: A by-product from oil refineries. *Journal of Hazardous Materials* 321: 600-610.